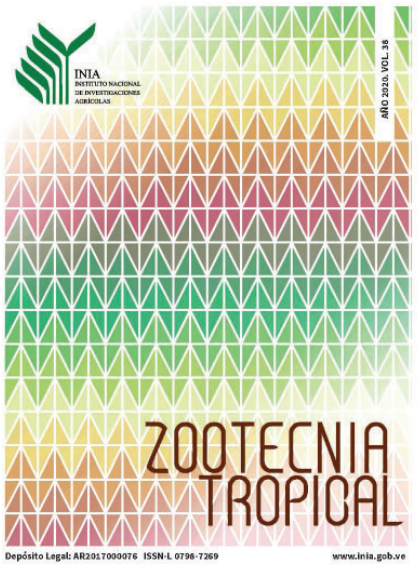
INIA
INSTITUTO NACIONAL
DE INVESTIGACIONES
AGRÍCOLAS

AÑO 2020. VOL. 38

ZOOTECNIA TROPICAL

Depósito Legal: AR2017000076 ISSN-L 0798-7269 www.inia.gob.ve



ISSN-L 0798-7269
Depósito Legal: **AR2017000076**
zootropi@gmail.com
+58 243-2404766

Zootecnia Tropical es una revista de acceso libre, publicada con el objetivo de contribuir con la divulgación científica de información relacionada con la producción animal, con énfasis en las regiones tropicales y subtropicales, a través de la publicación de artículos originales de investigación, notas técnicas, artículos de revisión y artículos especiales.

Zootecnia Tropical se publica en volumen continuo a partir del año 2020.

Comité Editorial

Belkys J. Vásquez M.	Editora Jefe
Reine Mejias	Editora Asistente
Oscar De La Rosa	Editor Técnico

Editores Asociados

Juan A. Vergara L.	LUZ - Venezuela
Débora M. Paxiao	PECEGE - Brasil
Oscar De La Rosa	INIA - Venezuela
Oziel D. Montañéz V.	UDG - Mexico
José J. Alió M.	ULEAM - Ecuador

Diagramacion y Gestión WEB

Oscar De La Rosa	INIA - Venezuela
Carlos Landaeta	INIA - Venezuela

Consejo Científico Asesor

Omar G. Verde S.	UCV - Venezuela
Juan F. Capote A.	ICIA - España
Glafiro Torres H.	COLPOS - México
Manuel E. Milla P.	UNJ - Perú
Bertha Chongo G.	CENSA - Cuba
Siomara Martínez M.	CENSA - Cuba
Carlos M. Becerril P.	COLPOS - México

Indización

Biosis Zoological Records	EUA
Agroforestry Abstracts	EUA
IICA - CIDIA	Costa Rica
Tropag & Rural	Holanda
AGRIS - FAO	Italia
LATINDEX	México
IAMSLIC	USA
PERIÓDICA	México
MEDIATHEK	Alemania
Base Agrícola Venezolana	Venezuela
Bioline International	Canadá
SCIELO	Venezuela
SCOPUS	EUA
OEI	Colombia
Citefactor	Canadá

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas

Giomar Blanco	Presidente
Deisy Carvajal	Gerente General
Nohelia Rodríguez	Gerente de Investigación
Betzy Camacho	Gerente de Producción Social
Nicolas García	Gerente de Participación y Desarrollo Comunitario

Editada por la Gerencia de Investigación
Área de Gestión de la Información
Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas Venezuela

EDITORIAL

Hacia un nuevo paradigma, la publicación continua.

Se aspira que la actividad científica genere conocimiento que aporte elementos para la mejora de las condiciones de vida (Aguado *et al.* 2008), de respuestas a las necesidades de la sociedad y a los desafíos mundiales (UNESCO 2020). Una vez creado, este conocimiento científico debe ser validado y legitimado por las comunidades científicas a través del escrutinio de las diferentes disciplinas. En este contexto, las revistas científicas constituyen el principal medio para la validación y divulgación de los avances y descubrimientos científicos (Reyna 2015), los cuales se convierten en un bien público, una vez este conocimiento es distribuido.

Es deseable que el conocimiento científico, como bien público, circule de una manera rápida y con un gran alcance. No obstante, en el proceso editorial de una revista científica participan un número significativo de personas cuyos lapsos de respuesta determinan la velocidad con que los artículos son aprobados, editados y publicados.

Aun cuando Zootecnia Tropical cambió a un formato exclusivamente electrónico desde el año 2017, mantuvo el modelo de producción editorial de su formato impreso, en el que los artículos eran publicados en números programados con una periodicidad trimestral. Lo anterior significaba que la publicación de algunos artículos se vería demorada, en espera de la conformación de un número.

Con la finalidad de evitar estas demoras innecesarias, Zootecnia Tropical adopta la modalidad de publicación continua a partir del volumen 38, año 2020. Esto significa la publicación de los artículos de manera individual o en lotes pequeños, una vez que han sido aceptados en la evaluación por pares, corregidos y editados (Sánchez 2017). Se utilizará un volumen anual, con identificadores digitales de objeto (DOI) para cada artículo y se eliminará la paginación continua y secuencial.

Entre los principales beneficios de este modelo de publicación electrónica están la optimización de flujo de trabajo editorial y la disminución del tiempo entre la aceptación del artículo y su publicación (Wentz 2014), conservando además, la calidad de todas las fases del proceso editorial (Quirós 2018). Son numerosas las iniciativas que se orientan a esta modalidad de publicación, tanto en el ámbito iberoamericano como mundial. En este marco internacional, Zootecnia Tropical se incorpora a estas iniciativas y adopta la expresión “se aprueba, se edita y se publica”, nuevo lema de la revista Salud Colectiva (2019).

Finalmente, el comité editorial de la revista Zootecnia Tropical en la búsqueda continua de mejorar los servicios a los autores y lectores, incorpora para este año 2020 un segundo formato de edición (HTLM) para el despliegue y lectura de los documentos publicados. Además, incorpora un nuevo conjunto de fuentes tipográficas que facilitará la lectura en dispositivos electrónicos (teléfonos, tabletas, computadoras).

En Zootecnia Tropical esperamos que la nueva modalidad de publicación electrónica así como el nuevo formato de edición sean del agrado de nuestros usuarios. Les invitamos como siempre, a participar en nuestra revista, a través del envío de sus contribuciones de investigación

EDITORIAL

Aguado, E; Rogel, R; Garduño, G; Oropeza, G; Zúñiga, MF. 2008. Redalyc: una alternativa a las asimetrías en la distribución del conocimiento científico. Ciencia, Docencia y Tecnología (en línea). 19(37)11-30. Consultado 4 sep. 2020. Disponible en https://bit.ly/2DQuSRw

Quirós, F. 2018. La publicación continua y la publicación preliminar: modalidades de publicación electrónica en Pensar en Movimiento. Pensar en movimiento: revista de ciencias del ejercicio y la salud 16(1):1-4. Consultado 4 sep. 2020. Disponible en DOI 10.15517/PENSARMOV.V16I1.33609

Reyna, FR. 2015. La bibliografía latinoamericana de la UNAM, a propósito de los 350 años de la primera revista científica (en línea). Ibersid: revista de sistemas de sistemas de información y documentación 9:47-52. Consultado 5 sep. 2020. Disponible en https://bit.ly/3hmv7l4

Salud Colectiva. 2019. Publicación continúa. Consultado 4 sep. 2020. Disponible en https://bit.ly/2RjvaDM

Sánchez, N. 2017. Editorial. La Revista Cubana de Información en Ciencias de la Salud adopta el modelo de publicación continua (en línea). Revista Cubana de Información en Ciencias de la Salud 28(2). Consultado 4 sep. 2020. Disponible en https://bit.ly/2DRiIYB

UNESCO (Organización de las Naciones Unidas para la educación, la ciencia y la cultura). 2020. La ciencia al servicio de la sociedad (en línea, sitio web). Consultado 5 sep. 2020. Disponible en https://bit.ly/2RnWC2V

Wentz P. 2014. Evolution of Article-based (or Continuous) Publication: Workflow Options and Lessons Learned (en línea). Science editor 37(3). Consultado 4 sep. 2020. Disponible en https://bit.ly/2RdHeX4

Estimación del área foliar específica en pasto cayman (*Brachiaria* híbrido)

Danny Villegas Rivas[1*], Nora Valbuena Torres[2], Manuel Milla Pino[3], Yamir Terán[2], Yary Pérez Pérez[4], Salli Villegas Rivas[5]

[1]Universidad Nacional de Jaén, Facultad de Ingeniería Forestal y Ambiental. Cajamarca, Perú. [2]Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora, Programa de Ciencias del Agro y del Mar. Guanare, Venezuela. [3]Universidad Nacional de Jaén, Facultad de Ingeniería Civil. Cajamarca, Perú. [4]Universidad Politécnica Territorial de Portuguesa "JJ Montilla", Programa Nacional de Formación Agroalimentaria. Guanare, Venezuela. [5]Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora, Programa de Ciencias Sociales. Guanare, Venezuela. *Correo electrónico: danny_villegas1@yahoo.com

RESUMEN

Estimar el área foliar es parte fundamental en ensayos con especies forrajeras. En tal sentido, la presente investigación se centró en comparar modelos para estimar el área foliar específica en pasto Cayman (*Brachiaria* híbrido). Para tales fines se llevó a cabo un ensayo durante la época seca con pasto *Brachiaria* híbrido cv. Cayman. La estimación del área foliar específica se realizó a través de modelos de regresión lineal (simple, cuadrático, cúbico, múltiple y exponencial) en función del ancho y largo de la hoja. Los resultados mostraron que el mejor modelo para estimar el área foliar específica en este híbrido es el modelo lineal múltiple. Finalmente, la metodología empleada en esta investigación sugiere que, además del coeficiente de determinación del modelo (R^2), los mejores criterios para seleccionar modelos para la estimación del área foliar específica en pasto *B*. híbrido cv. Cayman son el índice de entropía (AIC) y el error estándar residual.

Palabras clave: gramíneas forrajeras, regresión lineal múltiple, área foliar, entropía, error estándar residual.

Estimation of the specific leaf area in cayman grass (*Brachiaria* hybrid)

ABSTRACT

Estimating the leaf area is a fundamental part of trials with forage species. In this sense, the present investigation focused on comparing models to estimate the specific leaf area in Cayman grass (*Brachiaria* híbrido). For such purposes, a trial was carried out during the dry season with *Brachiaria* hybrid cv. Cayman. The estimation of the specific leaf area was made through linear regression models (simple, quadratic, cubic, multiple and exponential) depending on the width and length of the leaf. The results showed that the best model to estimate the specific leaf area in this hybrid is the multiple linear model. Finally, the methodology used in this research suggests that, in addition to the model determination coefficient (R^2), the best criteria for selecting models for estimating the specific leaf area in *B*. hybrid cv. Cayman are the entropy index (AIC) and the residual standard error.

Key words: forage grasses, multiple linear regression, leaf area, entropy, residual standard error

Recibido: 04/04/2020 - Aprobado: 18/09/2020

INTRODUCCIÓN

En Venezuela, la alimentación del rebaño en las explotaciones bovinas de doble propósito está basada principalmente en el pastoreo de gramíneas (Márquez *et al.* 2007). El conocimiento de la dinámica de crecimiento de una especie forrajera en las diferentes épocas del año, es una metodología útil para una mejor planeación y aprovechamiento del cultivo para obtener los mayores rendimientos y material vegetal de buena calidad nutritiva (Montes *et al.* 2016). Así mismo, para la producción de forraje se han utilizado diversas especies y variedades de hábito de crecimiento rastrero o erecto, entre ellas las del género *Brachiaria*, por lo que resulta de gran interés conocer su dinámica de crecimiento en diferentes condiciones edafoclimáticas, con la finalidad de establecer mecanismos que ayuden a su mejor utilización y manejo (Villegas *et al.* 2019a).

En sistemas de producción animal, especialmente en pastos es necesario tener una visión integral, y esto es posible a través del uso de modelos que permitan describir las complejas dinámicas asociadas al crecimiento de las plantas. En tal sentido, si deseamos medir la bioproductividad de un ecosistema natural o cultivo agrícola, el componente de interés final es la producción primaria neta o el rendimiento total de las partes aéreas y subterráneas (Beadle 1993). Es por ello que, en las investigaciones en el área agronómica, en cultivos, plantaciones forestales, y en especial en plantas forrajeras es de vital importancia para los investigadores estimar parámetros como biomasa foliar y el área foliar (Villegas *et al.* 2019b).

El área foliar es una de las principales variables que afectan el crecimiento de las plantas, por favorecer cambios en la razón del área foliar y en la eficiencia fotosintética en el uso del nitrógeno (Bulynck *et al.* 1999). Asimismo, el área foliar se define como la superficie de las hojas de las plantas medidas en el haz o envés; mientras que el área foliar específica se refiere a la cantidad de área de hoja que existe por unidad de peso de la misma (Ruiz 2015). El área foliar se asocia con muchos procesos agronómicos y fisiológicos que incluyen el crecimiento, fotosíntesis, transpiración, fotones entre la percepción y el balance de energía. Además, es uno de los parámetros más importantes en la evaluación del crecimiento de las plantas.

Existen parámetros vegetales como la biomasa foliar y el área foliar específica (AFE $m^2.g^{-1}$), los cuales, son fáciles de medir y están muy correlacionados con la tasa de crecimiento del cultivo (Evans 1972, Poorter y Remkes 1990, Körner 1991, Cornelissen *et al*. 1996). Este tipo de parámetros a menudo han sido pasados por alto, tal es el caso de la AFE, definida como la razón entre el área foliar y el peso de la hoja; es un índice del espesor y densidad de la hoja (Hunt 1990), o bien, es la medida de la foliosidad de la planta con base en el peso seco (Beadle 1988).

Se han desarrollado varios métodos para la determinación del área foliar en diferentes cultivos (Zanchi *et al*. 2009, Chirinos *et al*. 1997, Bianco *et al*. 2005, Martín *et al*. 2006, Pentón *et al*. 2006), donde se pueden utilizar equipos como los planímetros que miden este parámetro, pero su elevado costo no los hace de fácil disponibilidad; por lo tanto, se han evaluado otros métodos como la medición de largo y ancho de las hojas y la aplicación de regresiones (Galindo y Clavijo 2007).

Se han encontrado relaciones sencillas para determinar el área foliar de gramíneas como la obtenida por Solórzano (2008) en sorgo. Kemp (1960) en investigaciones realizadas sobre diferentes tipos de pasturas y otras especies, encontró diferentes ecuaciones de regresión en cuatro variedades de pastos que fueron evaluadas. En tal sentido, el objetivo de este trabajo es estimar el área foliar específica (AFE) mediante modelos de regresión en pasto Cayman (*Brachiaria* híbrido) en época de sequía.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en una finca en Portuguesa, Venezuela, (8°54'49.5072 N: 69°26'58.5675 O), destinada a la explotación bovina de cría y ceba. El clima presentó una precipitación promedio anual de 1.847,3 mm, los meses más lluviosos ocurren durante abril - septiembre y los secos de enero a marzo; la temperatura oscila entre 26 y 30 °C, la zona se caracteriza como Bosque Seco Tropical según Holdridge (1967). La investigación se realizó durante la época seca (enero a abril, 2017). Los suelos presentaron pH 4,6 (fuertemente ácido), materia orgánica; 0,06 % (baja),

fosforo; 8,6 ppm (bajo), potasio; 106 ppm (medio), calcio; 976 ppm (bajo), magnesio; 282 ppm (bajo), y textura arcillo limosa (AL), por lo que presenta características de un suelo ácido infértil. Se escogió un área monoespecifica con pasto *B*. híbrido cv. Cayman con dimensiones de 900 m^2 (30 x 30) con un año de sembrada, el material utilizado fue semilla certificada incrustada comercial de *B.* híbrido cv. Cayman.

El área bajo estudio fue cercada y se controlaron las malezas con herbicidas para hoja ancha durante el estudio. Antes de delimitar las parcelas se uniformizó la pastura con una rotativa a 15 cm del suelo. Posteriormente se dividió en cuatro bloques de 150 m^2 (30 m x 5 m). Antes del corte de uniformidad, se seleccionaron y cortaron 150 hojas al azar de cada área de estudio (Figura 1).

Figura 1. Hojas de *Brachiaria* híbrido cv. Cayman seleccionadas al azar.

A cada hoja se determinó el largo (L) desde la lígula hasta el ápice, la medida se realizó con una regla en centímetros, el ancho (A) se midió del punto medio del largo de la hoja, se utilizó una regla en centímetros (ver Figura 2), y el área foliar se calcó sobre un papel milimetrado la silueta de cada lamina foliar sin causar daño ni destrucción del tejido; posteriormente se midió el área contando directamente los cuadros englobados en el perímetro de la hoja en cm^2 (Schaeffer-Noveli y Cintron 1986). Así mismo, se tomaron los pesos secos de las hojas.

La estimación del área foliar específica (AFE*)* se realizó a través de modelos de regresión lineal (lineal simple,

Figura 2. Determinación del largo y ancho de las hojas de *Brachiaria* híbrido cv. Cayman.

cuadrático, cúbico, lineal múltiple y exponencial) en función del ancho y largo de la hoja (Cuadro 1).

En ese sentido, Beadle (1993) señala que el AFE ($m^2.kg^{-1}$) mide la frondosidad de una planta en base al peso seco. Esto puede disminuir sistemáticamente con el tiempo a medida que las hojas maduran, pero aumenta sistemáticamente con la profundidad en el dosel a medida que disminuye la luz disponible

Cuadro 1. Modelos considerados para estimar el área foliar específica ($m^2.g^{-1}$) en pasto *Brachiaria* híbrido cv. Cayman en función del largo y ancho de la hoja.

	Modelo
Lineal simple	$AFE = \beta_0 + \beta_1 L$
Cuadrático	$AFE = \beta_0 + \beta_1 L + \beta_2 L^2$
Cúbico	$AFE = \beta_0 + \beta_1 L + \beta_2 L^2 + \beta_3 L^3$
Lineal simple	$AFE = \beta_0 + \beta_1 A$
Cuadrático	$AFE = \beta_0 + \beta_1 A + \beta_2 A^2$
Cúbico	$AFE = \beta_0 + \beta_1 A + \beta_2 A^2 + \beta_3 A^3$
Lineal múltiple	$AFE = \beta_0 + \beta_1 L + \beta_2 A$
Exponencial	$AFE = \beta_0 e^{\beta_1 * L}$
Exponencial	$AFE = \beta_0 e^{\beta_1 * A}$

para el desarrollo de las hojas y la intercepción de la luz. Además de los criterios clásicos de selección de modelos como lo son el coeficiente de ajuste (R^2) y el error estándar residual (EER), se empleó el criterio de información de Akaike (AIC), el cual fue propuesto por Akaike (1974), y puede ser caracterizada por una medida de entropía del modelo (González y Landro 2018), y según Gómez *et al.* (2019) permiten la selección de la estructura óptima de covarianza, lo que evidencia un mejor ajuste del modelo.

El criterio de información Akaike (AIC) se define mediante la siguiente función:

$$AIC_{(k)} = -2 ln L[\hat{\theta}_{(k)}] + 2k$$

Donde $L[\hat{\theta}_{(k)}]$ es la función de máxima verosimilitud, $\hat{\theta}_{(k)}$ la estimación máxima verosímil del vector θ que contiene los parámetros del modelo y en este caso *k* representa el número de parámetros estimados del modelo. En la ecuación que permite determinar el criterio de información AIC, el término $-2 ln L[\hat{\theta}_{(k)}]$ es interpretado como una medida de bondad de ajuste, mientras que *2k* es una penalización creciente conforme aumenta el número de parámetros del modelo. Según este criterio, el mejor modelo, es aquel con menor valor de AIC. Este criterio no pretende identificar el modelo verdadero, sino el mejor modelo entre los modelos considerados. Los análisis estadísticos fueron realizados en el entorno de libre acceso R (R Core Team 2020).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 2 y las Figuras 3, 4 y 5 se observa que el modelo lineal múltiple que considera ambas variables, las cuales reportaron valores promedios para el largo = 24,66 cm y ancho de la hoja = 1,6486 cm, con desviaciones estándar de ± 5,381 y ± 0,0311, respectivamente, fue el que mostró el mejor ajuste (R^2 = 9,798 x 10^{-1}) y el menor error estándar residual (EER = 1,933 x 10^{-4}), mientras que, los modelos lineal simple, cuadrático, cúbico y el modelo exponencial (este último solapado sobre los modelos e imposibilitando su clara visualización), que consideran como variables regresoras, bien sea únicamente el largo o el ancho de la hoja mostraron un ajuste inferior entre R^2 = 5,904 x 10^{-1} y R^2 = 7,49 x 10^{-1}.

Cuadro 2. Comparación de modelos lineales para estimar el área foliar específica ($m^2.g^{-1}$) en pasto *Brachiaria* hibrido cv. Cayman en función del largo y ancho de la hoja.

Modelo	Coeficientes				R^2	AIC	Error estándar residual
	β_0	β_1	β_2	β_3			
Lineal simple	-1,037 x 10^{-3}	2,102 x 10^{-4}			7,239 x 10^{-1}	1220,2	7,113 x 10^{-4}
Cuadrático	-4,578 x 10^{-4}	1,573 x 10^{-4}	1,139 x 10^{-6}		7,246 x 10^{-1}	1218,4	7,139 x 10^{-4}
Cúbico	-1,460 x 10^{-3}	3,013 x 10^{-4}	-5,406 x 10^{-6}	9,501 x 10^{-8}	7,248 x 10^{-1}	1233,8	7,172 x 10^{-4}
Lineal simple	-1,379 x 10^{-3}	3,34 x 10^{-3}			6,114 x 10^{-1}	1184,3	8,439 x 10^{-4}
Cuadrático	-5,147 x 10^{-3}	8,0494 x 10^{-3}	-1,414 x 10^{-3}		6,301 x 10^{-1}	1216,5	8,273 x 10^{-4}
Cúbico	7,461 x 10^{-3}	-1,6061 x 10^{-2}	1,3414 x 10^{-2}	-2,943 x 10^{-3}	6,485 x 10^{-1}	1190,8	8,105 x 10^{-4}
Lineal múltiple	-3,682 x 10^{-3}	1,611 x 10^{-4}	2,328 x 10^{-3}		9,798 x 10^{-1}	1492,8	1,933 x 10^{-4}
Exponencial	-7,010239	5,9293 x 10^{-2}			7,49 x 10^{-1}	49,014	1,88 x 10^{-1}
Exponencial	-7,05358	9,1231 x 10^{-1}			5,904 x 10^{-1}	2,4196	2,402 x 10^{-1}

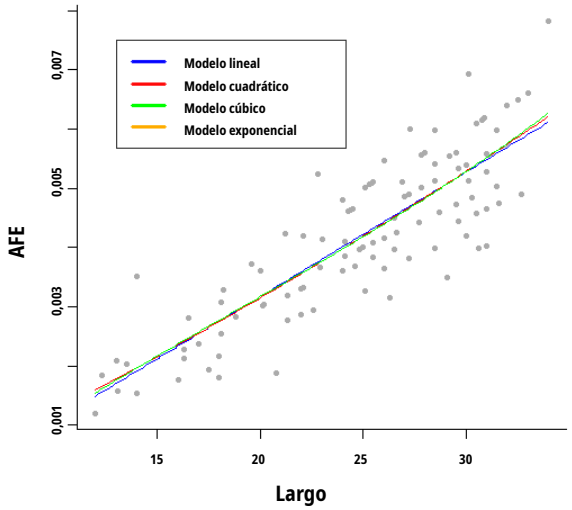


Figura 3. Ajuste de modelos lineales para estimar el área foliar específica ($m^2.g^{-1}$) en pasto *Brachiaria* híbrido cv. Cayman.

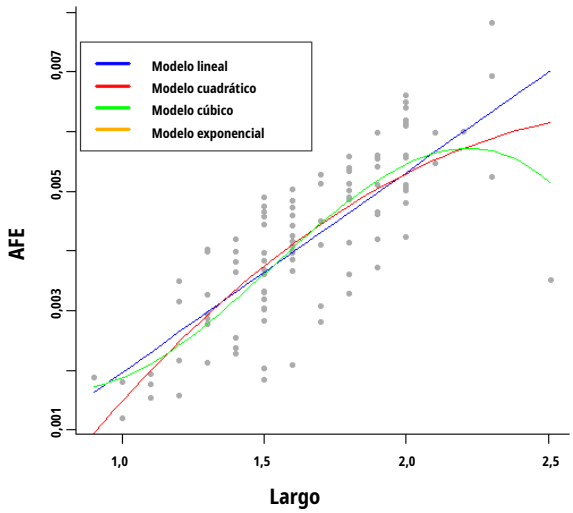


Figura 4. Ajuste de modelos lineales para estimar el área foliar específica ($m^2.g^{-1}$) en pasto *Brachiaria* híbrido cv. Cayman en función del ancho de la hoja

No obstante, en relación a la entropía del modelo, representada por el AIC, el modelo exponencial mostró una menor entropía en relación al resto de los modelos considerados, lo que se traduce en estimadores con varianzas más estables. Sin embargo, a la hora de seleccionar el modelo más adecuado para estimar el área foliar específica en pasto *B.*

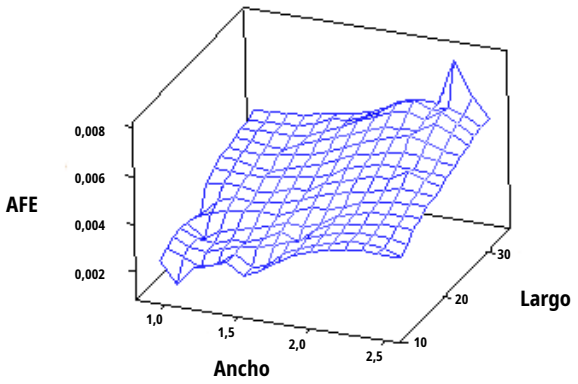


Figura 5. Ajuste de un modelo lineal multiple para estimar el área foliar específica ($m^2.g^{-1}$) en pasto *Brachiaria* híbrido cv. Cayman en función del largo y ancho de la hoja

híbrido cv. Cayman en función del largo y ancho de la hoja, los criterios que miden la bondad de ajuste del modelo (R^2) y el error estándar residual, permiten tener una mejor visión al respecto, con lo cual se puede sugerir que el mejor modelo para estimar el área foliar específica en éste hibrido es el modelo lineal múltiple ($AFE = \beta_0 + \beta_1 largo + \beta_2 ancho$), ya que, además de reportar un coeficiente de determinación elevado, es el modelo que muestra el menor error estándar residual.

El modelo antes señalado presenta evidencias que conducen a pensar que los estimadores del modelo antes referido son de varianza mínima. Estos resultados difieren de los reportados por Bianco *et al.* (2005), quienes en un ensayo para estimar el área foliar en una especie de *Brachiaria,* sugieren que el mejor modelo para tales fines es el lineal simple. Esto coincide con lo señalado en varios trabajos en pastos, como los realizados por Del Pozo *et al.* (1998), quienes también encontraron una alta relación entre el área foliar y el largo y ancho de la hoja en el pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*). No obstante, es importante considerar lo señalado por Banner y Higgs (2017), quienes advierten que, aunque la inferencia a partir de varios modelos nos puede ayudar a reducir la incertidumbre en el modelado ecológico, existe un debate activo sobre sus limitaciones reales y las circunstancias en las cuales se puede aplicar de forma segura. Del mismo modo, Gutiérrez-Cánovas

y Escribano-Ávila (2019) señalan que, en cualquier caso, se debe cuidar en la selección de variables explicativas y modelos, y evitar el uso del AIC como un sistema automático (no supervisado) de selección de modelos.

CONCLUSIONES

Los parámetros que determinaron el área foliar específica en pasto *B*. híbrido cv. Cayman fueron el largo y ancho de la hoja. Así mismo, el mejor modelo para estimar el área foliar específica (AFE*)* en éste hibrido fue el modelo lineal múltiple. Por su parte, la metodología empleada en esta investigación sugiere que, además del coeficiente de determinación del modelo (R^2), los mejores criterios para seleccionar modelos para la estimación del área foliar específica en pasto *B*. híbrido cv. Cayman son el índice de entropía (AIC) y el error estándar residual.

Finalmente, en virtud de los resultados obtenidos en esta investigación, se recomienda un estudio más exhaustivo que involucre otras variedades de pasto del género *Brachiaria* que permitan verificar la consistencia de los estimadores, así como seguir probando con el modelo exponencial en función del largo de la hoja, ya que aun cuando el ajuste se ubicó muy por debajo del modelo lineal múltiple, éste modelo es el que exhibe los estimadores más estables dentro del grupo de modelos considerados en esta investigación.

LITERATURA CITADA

Akaike, H. 1974. A new look at the statistical identification model. IEEE Transactions on Automatic Control 19(6):716-723.

Banner, KM; Higgs, MD. 2017. Considerations for assessing model averaging of regression coefficients. Ecological Applications 27(1):78–93.

Beadle, CL. 1988. Análisis del crecimiento vegetal. *In*: Coombs, J; Hall, DO; Long, SP; Scurlock, JMO. (eds.). Técnicas en fotosíntesis y bioproductividad. México, México, Editorial Futura. p.17-21.

Beadle, CL. 1993. Growth analysis (en línea). *In*: Hall, DO; Scurlock, JMO; Bolhar-Nordenkampf, HR; Leegood, RC; Long, SP. (eds.). Photosynthesis and Production in a Changing Environment. Dordrecht. Netherlands. Springer. p.36-46. Consultado 10 sep. 2020. Disponible en: https://bit.ly/33Rs13Y

Bianco, S; Pitelli, R; Bianco, M. 2005. Estimativa da área foliar de *Brachiaria plantaginea* usando dimensões lineares do limbo foliar. Planta daninha 23(4):597-601.

Bulynck, I; Fiorani, F; Lambers, H. 1999. Control of leaf growth and its role in determining in variation in plant growth rate from an ecological perpective. Plant Biology 1(1):13-18.

Chirinos, DT; Torres, L; Geraud-Pouey, F; Castejón, O; Fernández, RE; Vergara, JA; Mármol, LE. y Chirinos-Torres, D. 1997. Modelos para estimar el área foliar de melón híbrido 'Durango'. Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ) 14:163-171.

Cornelissen, JHC; Castro-Diez, P; Hunt, R. 1996. Seedling growth, allocation and leaf attributes in a wide range of woody plant species and types. Journal of Ecology 84(5):755-765.

Del Pozo, PP. 1998. Análisis del crecimiento del pasto estrella (*C. nlemfuensis*) bajo condiciones de corte y pastoreo. Tesis Dr. La Habana, Cuba, Instituto de Ciencia Animal. 133 p.

Evans, GC. 1972. The quantitative analysis of plant growth. Oxford, Inglaterra, Blackwell Scientific. 659 p.

Galindo, JR; Clavijo, J. 2007. Modelos alométricos para estimar el área de los foliolos de arveja (*Pisum sativum* L.). Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria 8(1):37-43.

Gómez, S; Torres, V; Medina, Y; Rodríguez, Y; Sardiñas, Y; Herrera, M; Rodríguez, R. 2019. Aplicación del Modelo Lineal Mixto y Lineal Generalizado Mixto, como alternativas de análisis en experimentos con medidas repetidas. Cuban Journal of Agricultural Science 53(1):7-12.

González, M; Landro, A. 2018. Criterios de información y complejidad estocástica. Revista de Investigación en Modelos Financieros 1:21-40.

Gutiérrez-Cánovas, C; Escribano-Ávila, G. 2019. Inferencia estadística a partir de varios modelos y su utilidad en ecología. Ecosistemas 28(1):118-120.

Holdridge, LR. 1967. Life zone ecology. Tropical Science Center, San José, Costa Rica. 206 p.

Hunt, R. 1990. Basic growth analysis: plant growth analysis for beginners. Londres, Inglaterra, Unwin Hyman. 112 p.

Kemp, CD. 1960. Methods of estimating the leaf area of grasses from linear measurements. Annals of Botany 24(4):491-499.

Körner, CH. 1991. Some often-overlooked plant characteristics as determinants of plant growth: a reconsideration. Functional Ecology 5(2):162-173.

Márquez, F; Sánchez, J; Urbano, D; Dávila, C. 2007. Evaluación de la frecuencia de corte y tipos de fertilización sobre tres genotipos de pasto elefante (*Pennisetum purpureum*). Rendimiento y contenido de proteína. Zootecnia Tropical 25(4):253-259.

Martín, GM; Soto, F; Rivera, R; Rentería, M. 2006. Estimación de la superficie foliar de la *Canavalia ensiformis* a partir de las medidas lineales de sus hojas. Cultivos Tropicales 27(4):77-80.

Montes, F; Castro, R; Aguilar, G; Sandoval, S; Solís, M. 2016. Acumulación estacional de biomasa aérea de alfalfa Var. Oaxaca criolla (*Medicago sativa* L.). Revista mexicana de ciencias pecuarias 7(4):539-552.

Pentón, G; Torres, N; Martín, G. 2006. Nota técnica: Estimación del área foliar a partir de observaciones morfológicas convencionales en *Morus alba* var. Acorazonada. Pastos y Forrajes 29(3):247-253.

Poorter, H; Remkes, C. 1990. Leaf area ratio and net assimilation rate of 24 wild species differing in relative growth rate. Oecologia (83):553-559.

R Core Team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. Viena, Austria, R Foundation for Statistical Computing. Disponible en: https://www.R-project.org/

Ruiz, J. 2015. Grupos funcionales de plantas con potencial para la restauración ecológica de manantiales de agua en la microcuenca de la Laguna de Pedro Palo y sus alrededores, Cundinamarca – Colombia. Tesis Maestria. Bogotá, Colombia, Universidad Nacional de Colombia. 123 p.

Schaeffer-Noveli, Y; Cintron, G. 1986. Guia para estudos de áreas de manguezal: estrutura, função e flora. São Paulo, Brasil, Caribbean Ecological Research. 150 p.

Solórzano, PR. 1988. Determinación de área foliar en sorgo granero (*Sorghum bicolor* L. Moench) a diferentes edades. Agronomía Tropical 26(1):39-45.

Villegas, D; Valbuena, N; Milla, M. 2019a. Evaluación de modelos aplicados a la producción de materia seca de *Brachiaria brizantha* en el período lluvioso. Revista de Ciencias Agrícolas 36(1):33-45.

Villegas, D; Valbuena, N; Milla, M; Terán, Y; Pérez, Y; Villegas, S; Ruiz, W; Paredes, A. 2019b. Comparación de modelos para estimar el área foliar en pasto Cayman (*Brachiaria* hybrido). Revista de Investigación en Agroproducción Sustentable 3(2):1-10.

Zanchi, BF; Waterloo, MJ; Aguiar, LJ; Randow, C; Kruijt, B; Cardoso, FL; Manz, AO. 2009. Estimativa do Índice de Área Foliar (IAF) e Biomassa em pastagem no estado de Rondônia, Brasil. Acta Amazonica 39(2):335-348.

Use of the Brazil nut in the juvenile silver catfish diet and its effect on zootechnical performance and body composition

Iuri Moraes Neyrão[1*], Paulo Rodinei Soares Lopes[2]

[1]Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia. Porto Alegre, Brasil. [2]Universidade Federal do Pampa. Dom Pedrito, Brasil. *Correio eletrônico: iuri_neyrao@yahoo.com.br

ABSTRACT

This work aimed to evaluate the effect of dietary Brazil nut (*Bertholletia excelsa*), on zootechnical performance of juveniles silver catfish (*Rhamdia quelen*). Fifty juveniles silver catfish (14.75 ± 1.42 g) were assigned to 5 treatments in a completely randomized design. The experimental treatments were different inclusion percentages of Brazil nut in the diet (T0, T3, T6, T9, T12) for 45 days. The variables final weight gain, average daily gain, protein efficiency rate, body protein deposition, body fat deposition, carcass yield and survival were evaluated. The data were submitted to analysis of variance, and the means compared by the Tukey test at 5 % significance. A lower final weight gain and a decrease in average daily gains were observed in the animals of the T3 group compared to T0. Protein efficiency rate, body protein and fat deposition, carcass yield and survival were not affected by the treatments evaluated. The inclusion of 3 % Brazil nut in the juveniles silver catfish diet, decreased the final weight gain and affected the average daily gain of the fish evaluated, without affecting the rest of the zootechnical variables studied.

Key words: fish feeding, aquaculture, inclusion, nutrition, *Bertholletia excelsa*, animal performance, carcass composition, *Rhamdia quelen.*

Uso de la nuez de Brasil en la dieta del bagre plateado juvenil y su efecto sobre el rendimiento zootécnico y la composición corporal

RESUMEN

Este trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de la nuez de Brasil (*Bertholletia excelsa*) en la dieta, sobre el rendimiento zootécnico de juveniles de bagre plateado (*Rhamdia quelen*). Se asignaron cincuenta juveniles de bagre plateado (14,75 ± 1,42 g) a 5 tratamientos en un diseño completamente al azar. Los tratamientos experimentales fueron diferentes porcentajes de inclusión de nuez de Brasil en la dieta (T0, T3, T6, T9, T12) durante 45 días. Se evaluaron las variables ganancia de peso final, ganancia diaria promedio, tasa de eficiencia proteica, deposición de proteína corporal, deposición de grasa corporal, rendimiento de canal y supervivencia. Los datos se sometieron a análisis de varianza y las medias se compararon mediante la prueba de Tukey al 5 % de significancia. Se observó una menor ganancia de peso final y una disminución en las ganancias diarias promedio en los animales del grupo T3 en comparación con T0. La tasa de eficiencia proteica, la deposición de grasas y proteínas corporales, el rendimiento de la canal y la supervivencia no se vieron afectados por los tratamientos evaluados. La inclusión de nuez de Brasil al 3 % en la dieta de juveniles de bagre plateado, disminuyó la ganancia de peso final y afectó la ganancia diaria promedio de los peces evaluados, sin afectar el resto de las variables zootécnicas estudiadas.

Palabras clave: alimentación de peces, acuicultura, inclusión, nutrición, *Bertholletia excelsa*, desempeño animal, composición de la canal, *Rhamdia quelen.*

Received: 12/05/2020 - Approved: 28/09/2020

INTRODUCTION

The silver catfish is one of the 11 species that make up the genus *Rhamdia*. Fortynine synonyms of silver catfish (*Rhamdia quelen*), have been reported (Silfvergrip 1996, Scaranto *et al*. 2018, Koerber and Reis 2020). It is a benthic animal that analyzes the substrate and feeds on crustaceans, vegetable remains, fish, as well as terrestrial and aquatic insects (Oyakawa *et al*. 2006, Gomiero *et al*. 2007, Olaya-Nieto *et al*. 2010, Barreto *et al*. 2020). According to Parra (2008), Tessaro (2012), Decarli *et al*. (2016) and Gomes *et al*. (2019), this fish has good acceptance in the consumer market, good productivity in tanks and has a high potential for commercialization, making it a great option for promoting fish farming. Due to the great commercial importance of this teleost, known as South American catfish, further studies related to its biological characteristics are still needed.

In fish farming, as in any animal breeding, food represents a high percentage of operating costs (40 to 60 %), and protein ingredients are responsible for most of this cost (Cheng *et al*. 2003, Borghesi *et al*. 2007, El-Sayed 2019). The search for alternative food sources for feed for aquaculture species is a worldwide trend, especially foods of plant origin, which are already used in the diet of fish (Alceste and Jory 2000, Yue and Zhou 2008, Yousif *et al*. 2019). Thus, Brandão (2009) and Brandão *et al*. (2018), ratifies this use in diets, as they are rich in vitamins and compounds with antioxidant capacities. However, factors such as seasonality, non-uniform distribution, absence of established production systems for most of these species, high harvest market price and the lack of knowledge about the nutritional efficiency of these ingredients, result in the low use of these products as ingredients in the formulation of diets (Guimarães and Storti Filho 2004, Rodrigues 2014).

Plant species that can provide alternative ingredients are available in large quantities and are endemic in certain regions, which facilitates obtaining them. The use of plant species with high biological value protein has been an alternative to partially replace animal protein sources (de Souza *et al*. 2004, dos Santos *et al*. 2009). The Brazil nut *Bertholletia excelsa* is originally from Latin America, being found in some states of the Amazon Basin and in Peru, Colombia, Bolivia, Venezuela and Ecuador (Müller *et al*. 1995, Damaceno 2017). The almond of the Brazil nut, contains polyunsaturated fatty acids, a lipid fraction of good quality and high food value, which present in the following proportions: 37.42 % oleic and 37.75 % linoleic, totaling 75.17 % of total fatty acids. It also contains 24.83 % of saturated acids such as palmitic, stearic and arachidonic, with 13.15 %; 10.36 % and 1.32 %, respectively (de Souza and de Menezes 2004, da Silva *et al*. 2010, Cardoso *et al*. 2017).

Therefore, the present study aimed to evaluate the effect of the use of Brazil nut at different levels of inclusion in the diet of juvenile silver catfish, on the zootechnical performance and body composition of the animals.

MATERIALS AND METHODS

Study location and experimental design

The experiment was carried out at the Laboratory of Pisciculture and Aquaculture (LAPA) at the Federal University of Pampa, Dom Pedrito Campus, RS, Brazil (30°59'37.4"S; 54°40'02.8"W). The experiment was conducted for 45 days (May to June 2014).

Fifty juvenile *Rhamdia quelen* (initial weight 14.75 ± 1.42 g) (Figure 1), from Piscicultura Bela Vista, Restinga Seca, RS, Brazil (29°42'05.9"S; 53°31'36.8"W), were assigned to completely randomized design, with 5 treatments (T0, T3, T6, T9, T12) and 2 repetitions. The fish were raised in a closed water recirculation system, using 10 experimental units containing 5 animals each.

Figure 1. Juvenile silver catfish (Rhamdia quelen) used in the study.

The experimental units were arranged on a mobile galvanized iron bench, arranged on two floors with 8 units per bench, equipped with an individual water inlet and outlet system. The water circulation in the experimental units was maintained at a volume of 1.87 liters per minute, for 24 hours a day. The system had a capacity of 948.8 liters, with 500 liters of water in the fiber box and 448.8 liters in a total of 8 experimental units of 56.1 liters each, which are supplied through a submerged pump installed in the biofilter, forming thus, the closed circulation system.

The water quality was monitored daily through the following parameters and instruments: temperature and dissolved oxygen (MO-900 meter, Instrutherm®), pH (Mpa-210A meter, MS Tecnopon®), electrical conductivity (HMCDB-150 meter, Highmed), salinity (RHB0-90, AKSO), ammonia, nitrite and alkalinity (colorimetric kit, Alfakit®).

Experimental diets and feeding management

The experimental diet was prepared in LAPA; the dry ingredients were weighed and homogenized to 1 mm (Figure 2). For drying, the ration was placed in an oven with forced air circulation for 48 hours (55 °C), and then it was packed in plastic pots and conditioned in a refrigerator at a temperature of 4 °C. The treatments were T0, T3, T6, T9 and T12 with inclusion of 0 %, 3 %, 6 %, 9 % and 12 % of Brazil nut respectively. Brazil nut used can be seen in Figure 2.

Figure 2. Brazil nut Bertholletia excelsa grounded, used in the study.

Feeding was given twice a day (9 am and 4 pm), in the proportion of 5 % of the total biomass. The diets were isoproteic and had 3300 $Kcal^{-1}$ of calculated Digestible Energy. The composition of the experimental feed was described by Coldebella and Radünz Neto (2002). The diets were analyzed at the Laboratory of Bromatology and Animal Nutrition (UNIPAMPA), according to the methodology described by AOAC (1995). The diets are described in Table 1.

Table 1. Proximate and bromatological composition of diets containing different levels of inclusion of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*), in dry matter.

	T0	T3	T6	T9	T12
Soybean meal	24.01	25.5	23.33	22.25	22.38
Wheat bran	7	7.5	10.02	10.39	8.89
Corn in Grain	19.21	15	11.62	10.19	9.98
Canola oil	13.03	12.25	12.28	11.42	10
Brazil nut	0	3	6	9	12
Meat Flour	35	35	35	35	35
Premix[2]	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75
Salt[1]	1	1	1	1	1
Bromatological Composition (%) (*)					
DM	96.40	97.02	97.54	97.51	97.79
CP	40.61	40.67	40.33	40.47	40.78
EE	10.22	11.81	12.02	12.54	13.05
A	7.81	7.83	7.67	7.94	7.95
CF	2.69	2.36	2.97	2.85	2.68

[1]According to Luchini (1990);[2]Vitamin premix composition (per kg): Calcium 210 g, Phosphorus 52 g, Methionine 29.40 g, Vitamin A 140,000 IU, Vitamin D 30,000 IU, Vitamin E, 250 IU, Vitamin K3 30 mg, Vitamin B1 38 mg, Vitamin B2 100 mg, Vitamin B6 52 mg, Vitamin B12 200 mcg, Pantothenic acid 260 mg, Niacin 700 mg, Folic acid 16 mg, Choline 3,030 mg, Sodium 40.50 g, Manganese 1,870 mg, Zinc 1,750 mg, Iron 1,125 mg, Copper 200 mg, Iodine 18.75 mg, Selenium 7.50 mg, Phytase 1.500 mg, Salinomycin 1.650 mg, BHT 150 mg, Chlorohydroxyquinoline 750 mg. (*)DM = dry matter; CP = crude protein; EE = ether extract; A = ash; CF = crude fiber. Analyzed - Laboratory of Bromatology and Animal Nutrition - UNIPAMPA.

Variables studied

To assess the zootechnical performance, the parameters; Final Weight Gain (WG), Average Daily Gain (ADG), Protein Efficiency Rate (PER), Body Protein Deposition (BPD), Body Fat Deposition (BFD), Carcass Yield (CY) and Survival (S), were calculated according to Silva *et al.* (2018) and Bomfim *et al*. (2020), using initial and final body weight of fish, food consumed, analysis of body composition and diets, as follows:

$$WG = final\ weight - initial\ weight$$

$$ADG = \frac{(final\ weight - initial\ weight)}{trial\ period}$$

$$PER = \frac{weight\ gain}{protein\ ingested}$$

$$BPD = \frac{(fin.weight \times fin.carcass\ crude.prot) - (init.weight \times init.carcass\ crude.prot)}{100}$$

$$BFD = \frac{(fin.weight \times fin.carcass.fat) - (init.weight \times init.carcass.fat)}{100}$$

$$CY = total\ weight - viscera\ and\ gills$$

$$S = \left(\frac{fish\ survivors}{number\ of\ fish\ in\ each\ treatment}\right) \times 100$$

At the beginning and the end trial, 10 animals per treatment were euthanized for initial and final carcass composition determination. These were carried out using the methodology described by Melo *et al.* (2002) and Hilbig *et al*. (2017).

Statistical analysis

The averages were submitted to analysis of variance and F test (significance level of 5 %). The means were compared using the Tukey test. The statistical package used was SAS (2001).

RESULTS AND DISCUSSION

During the experimental period, the water quality parameters were: 5.68 ± 0.11 mg.L^{-1} (dissolved oxygen), 23.91 ± 0.25 °C (temperature), 7.45 ± 0.13 (pH), 4.16 ± 2.23 mS/Cma 25 °C (conductivity), 5.37 ± 2.06 ‰ (salinity), 55 ± 5.77 mg.L^{-1} $CaCO_3$ (alkalinity), 0.075 ± 0.05 mg.L^{-1} (total ammonia), 0.04 ± 0.01 mg.L^{-1} (nitrite). The results obtained are in accordance with Boyd *et al*. (1997) and Lopes *et al*. (2009) for the development of fish and by Piedras *et al*. (2004, 2005) for the species *R. quelen*. The results of the zootechnical performance evaluation are described in Table 2.

The final weight gain of the fish in T3 group was lower compared to T0 (P= 0.0455). There was no difference among T0 and the rest treatments. This variation between treatments could be caused by the appearance of antinutritional factors due to the dietary adjustment of soybean meal in the formulation of the T3 diet (being the item of greatest value in the proximate composition of T3 diet). Studies

Table 2. Zootechnical parameters of juvenile silver catfish (*Rhamdia quelen*) fed a diet containing different levels of inclusion of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*), at 45 experimental days.

	T0	T3	T6	T9	T12	P
WG (g)	11.68 ± 6.61a	4.15 ± 2.22b	8.66 ± 5.13ab	6.49 ± 3.20ab	7.6 ± 4.30ab	0.0455
ADG (g/day)	0.95 ± 0.28a	0.67 ± 0.11b	0.82 ± 0.22ab	0.75 ± 0.16ab	0.8 ± 0.20ab	0.0487
PER (g)	0.28 ± 0.18	0.10 ± 0.07	0.21 ± 0.17	0.16 ± 0.10	0.18 ± 0.17	0.0955
BPD (g)	8.18 ± 4.96	3.29 ± 1.98	6.20 ± 4.59	4.59 ± 2.77	5.30 ± 4.42	0.0981
BFD (g)	2.16 ± 1.22	0.39 ± 0.39	1.44 ± 1.05	1.12 ± 0.65	1.28 ± 1.03	0,0975
CY (g)	82.13 ± 29.94	81.42 ± 14.63	82.46 ± 35.39	82.29 ± 19.05	86.54 ± 40	0.9955
S (%)	100	100	100	100	100	

Different letters in the lines show a significant difference by the Tukey test (P < 0.05). (*) WG = final weight gain; ADG = average daily gain; PER = protein efficiency rate; BPD = body protein deposition; BFD = body fat deposition; CY = carcass yield; S = percentage of survivors.

carried out by Stech *et al*. (2010) demonstrated the presence of antinutritional factors (tannins) in soybean meal, which can affect protease inhibition and consequently generates less weight gain. Less weight gain has been observed in *Oreochromis niloticus* fed with a diet containing 66 and 100 % of mango flour as a carbohydrate (de Lima *et al*. 2011). Likewise, Guimarães *et al*. (2009) observed a significant reduction in WG and feed intake in *O. niloticus*, when using mesquite pod bran partially replacing corn in the diet, particularly as the bran levels increased. In contrast, satisfactory results have been reported with the use of cottonseed meal for *O. niloticus* fingerlings, canola and cottonseed meal for *Leporinus macrocephalus* and fingerlings, canola and sunflower meal for juveniles *O. niloticus* (Furuya *et al*. 2000, Galdioli *et al*. 2001, de Souza and Hayashi 2003).

Average daily gain (ADG) was affected by treatments (P=0.0487). Greater gain in T0 was observed compared to T3 (Table 3), but not among T0 and the other treatments. Similar results were reported by Lui *et al*. (2012), who evaluated organic wheat to replace organic corn, in the juvenile *O. niloticus* diets. Opposite results were found by Jesus *et al*. (2011), in *O. niloticus* fed with diets supplemented with 20 % of *Prosopis juliflora* bran and *Manihot esculenta* leaf. In this experiment, the fish presented satisfactory results, without compromising ADG. Likewise, Azevedo *et al*. (2013) showed positive results in juvenile *O. niloticus*, fed with diets containing palm oil cake. It was observed better zootechnical performance, without altering body characteristics, energy retention and plasma cholesterol level.

Protein efficiency rate (PER) was unaffected by the evaluated treatments (P = 0.0955). Previous studies have reported that the body protein percentage does not differ between fish (*Ictalurus furcatus*) fed with protein sources of animal or vegetable origin (Webster *et al*. 1995). Similar results were observed in fingerlings *Prochilodus lineatus* V. and *Oreochromis niloticus* L. during the sexual reversion period, in trials that compared meat meal and soybean meal (Galdioli *et al*. 2000, de Souza *et al*. 2004). Similar to this study, no differences were observed in *Leporinus macrocephalus* fed with different levels of canola meal in replacement of soybean meal (Soares *et al*. 2000). On the other hand, studies carried out by Hevrøy *et al*. (2005) indicated that the protein efficiency rate of juvenile *Salmo salar* was affected by the consumption of 18 to 24 % fish hydrolyzed protein.

No significant differences were observed in BDP (P = 0.0981) between the treatments tested. Different results were shown by Pradhan *et al.* (2018) in indian major Carps, in which an increase of the fillet protein content was observed with increased feeding levels of feed plant-ingredient-based. Protein deposition determines growth. It is a highly complex and integrated process, which involves various interactions between the mechanisms involved, such as amino acid metabolism, amino acid flux between organs, protein turnover, and skeletal muscle growth (Silva 2013). The yield and performance of *R. quelen* have been reported to be unaffected by dietary lipids of different sources (canola oil, cod liver oil and swine fat; Melo *et al*. 2002). Previous studies carried out by

Table 3. Bromatological composition of the carcass of juvenile silver catfish (*Rhamdia quelen*) containing different levels of inclusion of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*), in dry matter.

	Begin	T0	T3	T6	T9	T12
DM	97.55	97.79	97.34	97.41	97.11	96.83
CP	61.46	65.21	63.59	64.61	63.99	64.46
EE	13.70	15.67	13.45	15.26	15	14.89
A	11.35	9.81	11.73	10.34	10.13	10.65
CF	2.84	2.1	2.57	3.00	2.81	2.81

DM= dry matter; CP= crude protein; EE = ether extract; A = ash; CF = crude fiber. Analyzed - Laboratory of Bromatology and Animal Nutrition - UNIPAMPA.

El-Sayed and Teshima (1992) and later confirmed by El-Sayed (2019), indicate that protein deposition in *O. niloticus*, is not affected by the source of dietary lipids (soy oil, cod liver oil).

The BFD values did not show significant differences between the evaluated treatments (P = 0.0975). Similar results were found by Baoshan *et al*. (2019), using wheat germ oil in the juvenile hybrid grouper feed. The contents of crude lipid of whole fish were not affected by diet. Opposite results were reported by Pradhan *et al*. (2018) in *Catla catla* and *Labeo rohita*, in which an increase of the fillet lipid content was observed with increased feeding levels of feed plant-ingredient-based. Studies conducted by Bomfim *et al*. (2005) in *Prochilodus affins*, concluding that fish fed diets containing a higher energy level showed greater body fat gain than those fed with diets containing lower energy levels.

There was no significant difference in carcass performance among the treatments tested (P = 0.9955). Similar results were found by Pradhan *et al*. (2018), during carcass traits evaluation of indian major Carps fed plant-ingredient-based feed. Likewise, Li *et al.* (2017), did not observe differences in the carcass yield of the Pond-raised Hybrid Catfish, fed with vegetable protein sources. The inclusion of mango residue bran (0, 5, 10 and 15 %) in the juveniles *O. niloticus* diet, produced carcass yield values close to those obtained in this experiment (de Lima *et al*. 2011). Lower CY values (60.93 %) were found by Lanna *et al*. (2004) in the evaluation of sugarcane bagasse in the diet of *O. niloticus*.

Survival rates of all experimental groups were 100 %, and not affected by Brazil nut. Similar results have been observed in *L. macrocephalus* subjected to diets with different levels of triticale (Nagae *et al.* 2001). The same result was reported in groups of *Ctenopharyngodon idella* fed different levels of inclusion of cassava bran in replacement of corn (Lacerda *et al.* 2005). Responses lower than the values obtained in this study were reported in *O. niloticus* (88 %) fed with wheat (Signor *et al*. 2007).

Nogueira and Rodrigues (2007) reported that factors such as the imbalance of the carrying capacity and the concentration of animals in small volumes of water, has negative effect on the survival rate. Likewise, these authors indicate that up to a 10 % mortality rate is acceptable in production systems.

The bromatological composition of juveniles silver catfish included in the experiment, are described in Table 3. The chemical composition values are within the values quoted for the species (Contreras-Guzmán *et al*. 1994). Protein and lipid values of 68.2 % and 13.77 % respectively, have been reported in juveniles of silver catfish fed with different sources of lipids (Melo *et al*. 2002). Likewise, in other study evaluating the effect of feeding on the chemical composition of the *R. quelen* carcass, it reported similar values of 68.58 - 73.23 % CP, 1.80 - 13.54 % EE and 7.70 - 8.72 A (Melo *et al*. 2003). The A values ranged from 9.81 to 11.73 %, greater than those observed by Rocha *et al.* (2007), for *R. quelen* fingerlings (6.90 and 9.39 %). The values reported in this research are higher than those observed by Maia *et al.* (1999), in a study that evaluated the chemical composition of *Prochilodus cearensis*, in different months of the year (17.8 - 19.6 % protein, 2.5 - 5.2 % lipids, 1.1 - 1.7 % ash). Similarly, our results are higher than those observed in the *Prochilodus* genus, reported by Oliveira (1999), who showed crude protein and lipid contents between 18.0 - 20.5 % y 0.5 - 4 % respectively, for *P. scrofa*, *P. cearensis* and *P. nigricans*.

The results of the zootechnical performance evaluation obtained in T6, T9 and T12 groups indicate that the Brazil nut could be included in the juvenile *R. quelen* diet, without affecting growth performance. However, the values shown by the T3 group require careful evaluation.

CONCLUSION

The inclusion of 3 % Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) in the juveniles silver catfish (*Rhamdia quelen*) diet, decreased the final weight gain and affected the average daily gain of the fish evaluated, without affecting the rest of the zootechnical variables studied. Further research is required to determine the adequate level of the Brazil nut in the *R. quelen* diet that allows to achieve an optimal zootechnical performance, as well as, to evaluate the effect of this ingredient on the antioxidant and immune response of this species.

CITED LITERATURE

Alceste, CC; Jory, DE. 2000. Tilápia – Alternative protein sources in tilapia feed formulation. Aquaculture Management 26(4):7-13.

AOAC (Association of Official Analytical Chemistry). 1995. Official methods of analysis. 16 ed. Arlington, USA, AOAC International. 1018 p.

Azevedo, RVD; Tonini, WCT; Braga, LGT. 2013. Palm oil and palm kernel cake in diets for juvenile Nile tilapia (on line). Pesquisa Agropecuária Brasileira 48(8) 1028-1034. Consulted 17 sep. 2020. Available in https://doi.org/fbm5

Baoshan, L; Jiying, W; Yu, H; Tiantian, H; Shixin, W; BingShan, H; Yongzhi, S. 2019. Effects of replacing fish oil with wheat germ oil on growth, fat deposition, serum biochemical indices and lipid metabolic enzyme of juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂) (on line) Aquaculture 505 54-62. Consulted 20 sep. 2020. Available in https://doi.org/fbm5

Barreto, LS; Souza, ATC; Martins, CC; Araujo, SBL; Ribeiro, CAO. 2020. Urban effluents affect the early development stages of Brazilian fish species with implications for their population dynamics (on line). Ecotoxicology and Environmental Safety 188:109907. Consulted 14 sep. 2020. Available in https://doi.org/fbm6

Bomfim, MAD; Lanna, EAT; Serafini, MA; Ribeiro, FB; Pena, KS. 2005. Proteína bruta e energia digestível em dietas para alevinos de curimbatá (*Prochilodus affins*) (on line). Revista Brasileira de Zootecnia 34(6):1795-1806. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/cb674p

Bomfim, MAD; Marchão, RS; Ribeiro, FB; Siqueira, JCD; Silva, LR; Takishita, SS. 2020. Digestible tryptophan requirement for tambaqui (*Colossoma macropomum*) fingerlings (on line). Revista Ciência Agronômica 51(2):1-9. Consulted 14 sep. 2020. Available in https://doi.org/fbm8

Borghesi, R; de Arruda, LF; Oetterer, M. 2007. A silagem de pescado na alimentação de organismos aquáticos (on line). Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de alimentos 25(2):329-339. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://bit.ly/3mYLecz

Boyd, C. 1997. Manejo do solo e da qualidade da água em viveiro para aquicultura. Coelho, S (trad.). Campinas, Brasil, Mogiana Alimentos S.A. 55 p.

Brandão, LV. 2009. Utilização de fitase em dietas para peixes (on line). Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia 3(5):1-10. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://bit.ly/30ga8uF

Brandão, LV; Tenório, GLO; Brandão, VMD; Costa, LC; Pereira Junior, GP; Roubach, R. 2018. Influência da adição de fitase em dietas para tambaqui (on line). Boletim do Instituto de Pesca 41(4):1025-1032. Consulted 14 sep. 2020. Available in https://bit.ly/3l15OaB

Cardoso, BR; Duarte, GBS; Reis, BZ; Cozzolino, SM. 2017. Brazil nuts: Nutritional composition, health benefits and safety aspects (on line). Food Research International 100(2):9-18. Consulted 14 sep. 2020. Available in https://doi.org/gcggn4

Cheng, ZJ; Hardy, RW; Usry, JL. 2003. Effects of lysine supplementation in plant protein-based diets on the performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and apparent digestibility coefficients of nutrients (on line). Aquaculture 215(1-4):255-265. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/bqzq6q

Coldebella, IJ; Radünz Neto, J. 2002. Farelo de soja na alimentação de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) (on line). Ciência Rural 32(3):499-503. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/dv32qz

Contreras-Guzmán, ES. 1994. Bioquímica de pescados e derivados. Jaboticabal, Brasil, FUNEP. 409 p.

Damaceno, JBD. 2017. Biocarvão e efeito residual de adubação fosfatada em mudas de Castanheira-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* Bonpl.) em latossolo da Amazônia. Dissertação de Mestrado. Manaus, Brasil, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. 71 p.

da Silva, RF; Ascheri, JLR; de Souza, JML. 2010. Influência do processo de beneficiamento na qualidade de amêndoas de castanha-do-brasil. Ciência e Agrotecnologia 34(2):445-450. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/bx6d9d

de Lima, MR; Ludke, MCMM; Porto Neto, FF; Pinto, BWC; Torres, TR; de Souza, EJO. 2011. Farelo de resíduo de manga para tilápia do Nilo (on line). Acta Scientiarum Animal Sciences 33(1):65-71. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/d8w6qs

de Souza, JML; de Menezes, HC. 2004. Processamento de amêndoa de torta de castanha-do-Brasil e farinha de mandioca: parâmetros de qualidade (on line). Ciência Tecnologia de Alimentos 24(1):120-128. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/dv34hz

de Souza, SR; Hayashi, C. 2003. Avaliação do farelo de algodão na alimentação de alevinos de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus* L.) (on line). Revista Zootecnia Tropical 21(4):383-398. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://bit.ly/3cCFtwt

de Souza, SR; Hayashi, C; Galdioli, EM; Soares, CM; Meurer, F. 2004. Diferentes fontes protéicas de origem vegetal para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) durante a reversão sexual (on line). Acta Scientiarum Animal Sciences 26(1):21-28. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/ccrhmq

Decarli, JA; Bittarello, AC; Sividanes, VP; Sary, C; Feiden, A; Signor, A; Bittencourt, F. 2016. Farinha de minhoca para juvenis de jundiá *Rhamdia voulezi* criados em tanques-rede (on line). Agrarian 9(34):390-396. Consulted 14 sep. 2020. Available in https://bit.ly/33bbUz2

dos Santos, VG; Fernandes Junior, AC; Koch, JFA; Barros, MM; Guimaraes, IG; Pezzato, LE. 2009. Performance of Nile tilapia fed diets containing meal radish forage (on line). Boletim do Instituto de Pesca 35(3):451-459. Consulted 14 sep. 2020. Available in https://bit.ly/3cI9JWS

El-Sayed, AM. 2019. Tilapia culture. 2 ed. Academic Press. Amsterdam, Netherlands. 358 p.

El-Sayed, AM; Teshima, S. 1992. Protein and energy requirements of nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fry (on line). Aquaculture 103(1):55-63. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/cwqz99

Furuya, VRB; Furuya, WM; Hayashi, C; Soares, CM. 2000. Niveles de inclusión de harina de girasol en la alimentación de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), en etapa juvenil. Revista Zootecnia Tropical 18(1):91-106

Galdioli, EM; Hayashi, C; de Faria, ACEA; Soares, CM. 2001. Substituição parcial e total da proteína do farelo de soja pela proteína dos farelos de canola e algodão em dietas para alevinos de piavuçu, (*Leporinus macrocephalus*) (Garavello & Britski, 1988) (on line). Acta Scientiarum Animal Sciences 23(4):841-847. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/fbpf

Galdioli, EM; Hayashi, C; Soares, CM; Furuya, WM; Nagae, MY. 2000. Diferentes fontes protéicas na alimentação de alevinos de curimbá (*Prochilodus lineatus* V.) (on line). Acta Scientiarum Animal Sciences 22(2):471-477. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://bit.ly/3icYnv4

Gomes, RLM; Moro, EB; Sosa, BS; Damasceno, DZ; Rodrigues, ML; Bittencourt, F. 2019. Sources of lipids in diets for silver catfish (*Rhamdia quelen*) juveniles (on line). Boletim do Instituto de Pesca 45(2):1-10. Consulted 14 sep. 2020. Available in https://doi.org/fbpn

Gomiero, LM; Souza, UP; Braga, FMS. 2007. Reprodução e alimentação de *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) em rios do Núcleo Santa Virgínia, Parque Estadual da Serra do Mar, São Paulo, SP (on line). Biota Neotropica 7(3):127-133. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/b33w8r

Guimarães, IG; Lima, CB; Ribeiro, VL; Miranda, EC. 2009. Farinha de algaroba em dietas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (on line). Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia 3(3):491-496. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://bit.ly/338RAy0

Guimarães, SF; Storti Filho, A. 2004. Produtos agrícolas e florestais como alimento suplementar de tambaqui em policultivo com jaraqui (on line). Pesquisa Agropecuária Brasileira 39(3):293-296. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/cv8cgv

Hevrøy, EM; Espe, M; Waagbø, R; Sandnes, K; Ruud, M; Hemre, G. 2005. Nutrient utilization in Atlantic

salmon (*Salmo salar* L.) fed increased levels of fish protein hydrolysate during a period of fast growth (on line). Aquaculture Nutrition 11:301–313. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/fs3rd3

Hilbig, CC; do Nascimento, NF; Granville, M; de Toledo, CR; Neumann, G; Bombardelli, RA; Nakaghi, LSO. 2017. Effect of broodstock age on reproductive parameters in silver catfish *Rhamdia quelen* (on line). Aquaculture Research 48(9):5150-5154. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/fbpv

Jesus, LSFD; Azevedo, RVD; Carvalho, JSO; Tavares Braga, LG. 2011. Farelos da vagem da algaroba e da folha da mandioca em rações para juvenis de tilápia do Nilo mantidos em água salobra (on line). Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal 12(4):1116-1125. Consulted 17 sep. 2020. Available in https://bit.ly/30efkPs

Koerber, S; Reis, RE. 2020. Evidence for the true type-locality of *Rhamdia quelen* (Siluriformes: Heptapteridae), and the geographical origin and invalid neotype designation of four of its synonyms (on line). Neotropical Ichthyology 18(1):1-12. Consulted 14 sep. 2020. Available in https://doi.org/fbp2

Lacerda, CHF; Hayashi, C; Soares, CM; Boscolo, WR; Kavata, LCB. 2005. Farelo de mandioca *Manihot esculenta* Crants em substituição ao milho *Zea mays* L. em rações para alevinos de carpa-capim *Ctenopharyngodon idella* (on line). Acta Scientiarum Animal Sciences 27(2):241-245. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/bjqnbc

Lanna, EAT; Pezzato, LE; Furuya, WM; Vicentini, A; Cecon, PR; Barros, MM. 2004. Fibra bruta e óleo em dietas em dietas práticas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (on line). Revista Brasileira de Zootecnia 33(6 supl. 3):2177-2185. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/cttwpk

Li, M; Bosworth, B; Lucas, P. 2017. Replacing Soybean Meal with Alternative Protein Sources in Diets for Pond-raised Hybrid Catfish, ♀ *Ictalurus punctatus* × ♂ *Ictalurus furcatus* (on line). Journal of the world aquaculture society. Consulted 14 September 2020. Available in https://doi.org/gd3ftn

Lopes, PRS; Pouey, JLOF; Enke, DBS; Mallmann, CA; Kich, HA; Soquetta, MB. 2009. Use of adsorbent in diets containing aflatoxin for silver catfish fingerlings (on line). Revista Brasileira de Zootecnia 38(4):589-595. Consulted 14 sep. 2020. Available in https://doi.org/bs4b9v

Luchini, L. 1990. Manual para el cultivo del bagre sudamericano (*Rhamdia sapo*). Buenos Aires, Argentina, INIDEP. 63 p.

Lui, TA; Neu, DH; Boscolo, WR; Bittencourt, F; de Freitas, JMA; Feiden, A. 2012. Uso de trigo orgânico na alimentação de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (on line). Pesquisa Agropecuária Tropical 42(4):383-389. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/fbp3

Maia, EL; de Oliveira, CCS; Santiago, AP; Cunha, FE; Holanda, FC; Sousa, JÁ. 1999. Composição química e classes de lipídios em peixe de água doce curimatã comum, *Prochilodus cearensis* (on line). Ciência e Tecnologia de Alimentos 19(3):433-437. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/b8h3xw

Melo, JFB; Boijink, CL; Radünz Neto, J. 2003. Efeito da alimentação na composição química da carcaça do jundiá *Rhamdia quelen* (on line). Revista Biodiversidade Pampeana 1(1):12-23. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://bit.ly/3ibXD9t

Melo, JFB; Neto, JR; Silva, JHS; Trombetta, CG. 2002. Desenvolvimento e composição corporal de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo diferentes fontes dSASe lipídios (on line). Ciência Rural 32(2):323-327. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/dk637s

Müller, CH; Figueiredo, FJ; Kato, AK; de Carvalho, JEU; Stein, R; Silva, A. 1995. A cultura da castanha-do-Brasil. Coleção plantar 23. Brasilia, Brasil, EMBRAPA SPI. 65 p. (Série Vermelha Fruteiras). Consulted 21 April 2020. Available in https://bit.ly/33aKhWH

Nagae, MY; Hayashi, C; Galdioli, EM. 2001. Inclusão do triticale em rações para alevinos de piavuçu, *Leporinus macrocephalus* (Garavello & Britski,

1988) (on line). Acta Scientiarum 23(4):849-853. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/fbp5

Nogueira, AC; Rodrigues, T. 2007. Criação de tilápias em tanques-rede. Salvador, Brasil, Sebrae. 23 p.

Oliveira, SLCL. 1999. Estudo dos constituintes lipídicos em peixes do Ceará. Dissertação de Mestrado. Fortaleza, Brasil, Universidade Federal do Ceará. 118 p.

Olaya-Nieto, CW; Hernández, DF; Ayarza, E. 2010. Biología reproductiva del liso *Rhamdia quelen* (Pisces: Heptapteridae) en el río Sinú, Colombia (on line). Acta Biológica Colombiana 15(3):61-74. Consulted 14 sep. 2020. Available in https://bit.ly/3j7ab3b

Oyakawa, OT; Akama, A; Mautari, KC; Nolasco, JC. 2006. Peixes de riachos da Mata Atlântica. São Paulo, Brasil. Neotrópica. 201 p.

Parra, JEG; Radünz Neto, J; Veiverberg, CA; Lazzari, R; Bergamin, GT; Pedron, FA; Rossato, S; Sutili, F. 2008. Alimentação de fêmeas de jundiá com fontes lipídicase sua relação com o desenvolvimento embrionário e larval (on line). Ciência Rural 38(7):2011-2017. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/csc8dt

Piedras, SRN; Moraes, PRR; Isoldi, LA; Pouey, JLOF; Rutz, F. 2005. Comparação entre o selênio orgânico e o inorgânico empregados na dieta de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). Boletim do Instituto de Pesca 31(2) 171-174. Consulted 14 September 2020. Available in: https://bit.ly/2S940zC

Piedras, S; Moraes, P; Pouey, J. 2004. Crescimento de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*), de acordo com a temperatura da água (on line). Boletim do Instituto de Pesca 30(2):177-182. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://bit.ly/3ifg5xQ

Pradhan, C; Narassimmalu, R; Mohanty, S. 2018. Effect of Different Feeding Levels of Plant-ingredient-based Feed on Fillet Fatty Acid Profile, Carcass Trait, and Sensory Characteristics of Indian Major Carps in Earthen Pond Polyculture (on line). Journal of the world aquaculture society. Consulted 14 September 2020. Available in https://doi.org/fbp6

Rocha, CB; Pouey, JLOF; Enke, DBS; Xavier, EG; Almeida, DB. 2007. Suplementação de fitase microbiana na dieta de alevinos de jundiá: efeito sobre o desempenho produtivo e as características de carcaça (on line). Ciência Rural 37(6):1772-1778. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/fgr443

Rodrigues, APO. 2014. Nutrição e alimentação do tambaqui (*Colossoma macropomum*) (on line). Boletim do Instituto de Pesca 40(1):135-145. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://bit.ly/3i5xetW

SAS. 2001. The SAS system for Windows. Version 8e. SAS Institute Inc. Cary, NC. 1 CD-ROM

Scaranto, BMS; Ribolli, J; Zaniboni-Filho, E. 2018. DNA barcoding reveals blend of silver catfish *Rhamdia* species from fish farms in Southern Brazil (on line). Aquaculture Research 49(5):1907-1913. Consulted 14 sep. 2020. Available in https://doi.org/gdcqwj

Signor, AA; Boscolo, WR; Feiden, A; Signor, A; Reidel, A. 2007. Triguilho na Alimentação da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.): Digestibilidade e Desempenho (on line). Ciência Rural 37(4):1116-1121. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/c7j6k3

Silfvergrip, AMC. 1996. A sistematic revision of the neotropical catfish genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae). Doctoral dissertation. Stockholm, Sweden, Stockholm University. 156 p.

Silva, JC; Bomfim, MAD; Lanna, EAT; Ribeiro, FB; de Siqueira, JC; de Sousa, TJR; Marchão, RS; do Nascimento, DCN. 2018. Lysine requirement for tambaqui juveniles (on line). Semina: Ciências Agrárias, 39(5):2157-2168. Consulted 14 sep. 2020. Available in https://doi.org/fbp7

Silva, TSC. 2013. Exigências em proteína e energia e avaliação de fontes proteicas alternativas na alimentação do cachara *Pseudoplatystoma fasciatum*. Tese de Doutorado. Piracicaba, Brasil, Universidade do Estado de São Paulo (UNESP). 44 p.

Soares, CM; Hayashi, C; Rossetto, V; Furuya, VRB; Furuya, WM; Galdioli, EM. 2000. Substituição parcial e total da proteína do farelo de soja pela

do farelo de canola na alimentação de alevinos de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*, L.) (on line). Revista Brasileira de Zootecnia 29(1):15-22. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/fmdf5b

Stech, MR; Carneiro, DJ; de Carvalho, MRB. 2010. Fatores antinutricionais e coeficientes de digestibilidade aparente da proteína de produtos de soja para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Acta Scientiarum Animal Sciences 32(3) 255-262. Consulted 21 sep. 2020. Available in https://doi.org/cqpk5b

Tessaro, L; Toledo, CPR; Neumann, G; Krause, RA; Meurer, F; Natali, MRM; Bombardelli, RA. 2012. Growth and reproductive characteristics of *Rhamdia quelen* males fed on different digestible energy levels in the reproductive phase (on line). Aquaculture 326-329:74-80. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/c374xc

Webster, CD; Tidwell, JH; Tiu, LS; Yancey, DH. 1995. Use of soybean meal as partial or total substitute of fish meal in diets for blue catfish (*Ictalurus furcatus*) (on line). Aquatic Living Resources 8(4):379-384. Consulted 21 apr. 2020. Available in https://doi.org/dwgkgq

Yousif, RA; Abdullah, OJ; Ahmed, AM; Adam, MI; Ahmed, FAM; Idam, OA. 2019. Effect of replacing fishmeal with water spinach (*Ipomoea aquatica*) on growth, feed conversion and carcass composition for Nile Tilapia fry (*Oreochromis niloticus*) (on line). Journal of Aquatic Science and Marine Biology 2(4):13-20. Consulted 14 sep. 2020. Available in https://bit.ly/3kYsdp0

Yue, YR; Zhou, QC. 2008. Effect of replacing soybean meal with cottonseed meal on growth, feed utilization, and hematological indexes for juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* (on line). Aquaculture 284(1-4):185-189. Consulted 14 sep. 2020. Available in https://doi.org/c454x8

Cinco elementos limitan una aproximación al comportamiento real de la leptospirosis

Guillermo Barreto Argilagos[1], Herlinda de la C. Rodríguez Torrens[1], Herlinda de la C. Barreto Rodríguez[2]

[1]Universidad de Camagüey Ignacio Agramonte Loynaz (UCIAL). Camagüey, Cuba. [2]Universidad Médica Carlos J. Finlay. Camagüey, Cuba. Correo electrónico: guillermo.barreto@reduc.edu.cu

RESUMEN

La leptospirosis es la zoonosis bacteriana más extendida en el planeta. Sus consecuencias en la salud humana y animal están subestimadas por el efecto de factores objetivos y subjetivos que dificultan el acercamiento a su impacto real, aspecto agravado en el contexto de la COVID-19. Esta revisión pretende alertar sobre cinco elementos que limitan la aproximación al comportamiento real de la leptospirosis. Para ello se revisaron 155 publicaciones acreditadas. En base al objetivo trazado se seleccionaron 59, que constituyen las referencias de la propuesta. Por su actualidad clasifican como: 48 (últimos 5 años), 10 (2000 - 2014) y 1 (siglo XX). Cinco elementos enmascaran la realidad inherente al impacto de la leptospirosis; dos se reflejan explícitamente en lo publicado: las limitaciones diagnósticas y la subestimación de la zoonosis. A ellas vale sumar tres no declaradas: las barreras geográficas y socioeconómicas intensificadas en tiempos de COVID-19; el inexplicable divorcio existente entre los conocimientos alcanzados del agente etiológico y la adecuación de técnicas factibles y fiables internacionalmente y la subvaloración de ovinos, caprinos y equinos como reservorios de serovares patógenos a humanos y a otras especies animales. La aparición de otro agente zoonótico, SARS-CoV-2, responsable de la pandemia del siglo, acrecentará el impacto silente de la leptospirosis si no se valoran los factores analizados.

Palabras clave: COVID-19, enfermedades emergentes y reemergentes, leptospirosis, enfermedades tropicales subvaloradas, zoonosis.

Five elements restricted the approach to a real leptospirosis behavior

ABSTRACT

Leptospirosis is the most widespread bacterial zoonosis on the planet. Its consequences on human and animal health are underestimated by the effect of objective and subjective factors that restrict the approximation to its real behavior, an aggravated aspect in the context of COVID-19. This review aims to warn about five elements that limit the approach to the actual behavior of leptospirosis. To this aim, 155 accredited publications were reviewed. Based on the objective set, 59 were selected, which constitute the references of this proposal. Due to their current status classified as follows: 48 (last 5 years), 10 (2000 - 2014) and 1 (20th century). Five elements mask the reality inherent to the impact of leptospirosis; two are explicitly reflected: the diagnostic limitations and the underestimation of zoonosis. To these it is worth adding another three: the geographical and socioeconomic barriers intensified in times of COVID-19, the inexplicable divorce between the knowledge reached by the etiological agent and the adequacy of internationally feasible and reliable techniques; the underestimation of sheep, goats and horses as reservoirs of serovars pathogens to humans and other animal species. The appearance of another zoonotic agent, SARS-CoV-2, responsible for the pandemic of the century, will increase the silent impact of leptospirosis if the analyzed factors are not assessed.

Key words: COVID-19, emerging and re-emerging diseases, leptospirosis, neglected tropical diseases, zoonotic disease.

Recibido: 28/09/2020 - Aprobado: 15/11/2020

INTRODUCCIÓN

En medio de una pandemia como la COVID-19, que marca un antes y un después pleno de incertidumbres para la supervivencia humana, resulta difícil asumir la existencia de otras amenazas a las que valga la pena prestar atención (Ehrenberg *et al*. 2020). Quienes lo hacen es probable que de inmediato den un lugar a las enfermedades de etiología viral, como es el caso del Dengue; un flagelo aún latente en el contexto Latinoamericano y del Caribe, con impactos reales tan alarmantes que, a partir de un momento, conllevaron a achacarle el protagonismo indebido de brotes y casos realmente ocasionados por *Leptospira* spp., un patógeno bacteriano marcado por la subestimación (Musso *et al*. 2014). Un error frecuente (Mattar *et al*. 2017) que, cuando se desvela, el desenlace suele ser fatal (Guernier *et al*. 2018a).

De esta forma, a la par que se hace un llamado a no olvidar la existencia de otras enfermedades letales a la especie pensante, se expone esa contradictoria subvaloración de que es objeto la leptospirosis pese a ser la zoonosis bacteriana más extendida en el planeta (Chatterjee *et al*. 2017, Ghazaei 2018). Subestimación surgida cuando aún no existía un rival como SARS-CoV-2. Algo incomprensible si se tiene en cuenta que esta espiroqueta, entre otras, puede ocasionar cuadros respiratorios tan letales como el virus que hoy ocupa la atención de la humanidad (Hall y Lambourne 2014, Guernier *et al*. 2018a, Ehrenberg *et al*. 2020).

Anualmente se producen 1,03 millones de casos de leptospirosis en humanos, 60.000 de los cuales fallecen a causa de esta zoonosis (Vincent *et al*. 2019). Cifras que solo constituyen una sutil aproximación a la real dimensión de su impacto. Múltiples son los factores, objetivos y subjetivos, que interfieren al respecto. Este error se atribuye a las limitaciones diagnósticas en los países en vías de desarrollo, también los más afectados por la enfermedad (Hartskeerl *et al*. 2011, Al-orry *et al*. 2016, Ghazaei 2018, Vincent *et al*. 2019).

Lo que ocasiona esta zoonosis en la esfera animal adolece de mayores inexactitudes, aunque hay consenso en cuanto a las considerables pérdidas económicas que provoca (Hartskeerl *et al*. 2011, Khamassi Khbou *et al*. 2017, Nantawan y Rattanawat 2019). Una amplia gama de especies domésticas y salvajes, además de padecer la enfermedad actúan como reservorios de serovares patógenos a las personas (Lunn 2018, Wynwood *et al*. 2016, Barreto *et al.* 2020a).

Las aguas superficiales y el suelo contribuyen al mantenimiento de las espiroquetas en el ambiente, así como en el tránsito a sus hospederos. Traslación en la que el tropismo del agente bacteriano no se limita a una especie animal en exclusivo como reservorio, más bien a varias. Algunas de las cuales resultan portadoras asintomáticas, en tanto otras manifiestan síntomas leves o severos de la enfermedad (Vincent *et al*. 2019). El contacto con estos medios naturales contaminados constituye una fuente importante de contagio a los humanos en la actualidad, como refieren algunas publicaciones de países desarrollados (Saito *et al*. 2013; Picardeau 2017; Thibeaux *et al.* 2018, 2020). La capacidad de *Leptospira* spp. de producir *biofilms* favorece su supervivencia por largos períodos en estos entornos (Kumar *et al*. 2016, Khattak *et al*. 2018, Thibeaux *et al*. 2020).

¿Cómo una zoonosis tan antigua y letal reemerge en este siglo y es subvalorada? Una sumatoria de factores, entre los que destaca la subvaloración de la enfermedad, coadyuvan a tan controversial resultado. No por contradictorio exclusivo, si se recuerda que es un sitial compartido con otras zoonosis quizás más antiguas como son la brucelosis y la tuberculosis. Todas mortíferas, subestimadas y reemergentes (Barreto y Rodríguez 2019; Barreto *et al.* 2019, 2020b), cuyos efectos, en todos los sentidos, se agravarán al amparo de la COVID-19. Por todo ello, es objetivo de esta revisión alertar en cuanto a cinco elementos que limitan la aproximación al comportamiento real de la leptospirosis.

DESARROLLO

Para la escritura de este Artículo de revisión, previamente se realizó una búsqueda a partir de 155 publicaciones acreditadas. En base al objetivo trazado se seleccionaron 59, que constituyen las referencias de esta propuesta. Por su actualidad clasifican de la siguiente forma: 48 (últimos 5 años), 10 (2000 - 2014) y 1 (siglo XX). A continuación, y a partir de lo resumido de las mismas, se discuten cinco elementos cruciales que limitan el acercamiento real a la

zoonosis bacteriana más extendida por el planeta, razones quizás por las que persiste como enfermedad reemergente.

Subvaloración de la zoonosis

En aras de la brevedad baste señalar que la propia Organización Mundial de la Salud (OMS) cataloga a la leptospirosis como "enfermedad tropical desatendida en la esfera humana" (Hartskeerl *et al*. 2011, Torres-Castro *et al*. 2018); en la animal, huelgan los comentarios. Por su parte, en el Protocol for Developing a Database of Zoonotic Disease Research in India (DoZooRI) (Chatterjee *et al*. 2017), encabeza la lista de las zoonosis de etiología bacteriana por dos razones: 1) Su alarmante extensión en el contexto actual. 2) La subvaloración de que es objeto, pese a ello.

Para ahondar en las causas que generaron concepciones tan contradictorias es preciso retroceder en el tiempo.

Durante los dos primeros tercios del siglo XX la leptospirosis ocupó un sitial priorizado en los sistemas de vigilancia veterinarios y de salud pública de todo el mundo. Luego, decayó su atención, especialmente en los países de zonas templadas, quizás debido a: 1) El reducido número de casos notificados tanto en humanos como en animales. 2) La existencia de opciones para su prevención y terapia. 3) La confianza al disponer de un adecuado control epidemiológico de la zoonosis (Wasiński y Dutkiewicz 2013, Barreto y Rodríguez 2018a).

La sabiduría implícita en el refranero popular, a través de uno de los ejemplos más usados, resume de forma magistral lo acontecido: "en la confianza está el peligro". Así ha sido, y a un precio alto. En lo que va de milenio se ha notificado la presencia de serovares patógenos de *Leptospira* a nivel mundial. Solo la Antártida constituye la excepción (Costa *et al*. 2012). ¿Hasta cuándo su peculiar ecosistema le permitirá mantener ese estatus? Dados los cambios adversos apresurados que acompañan a esta centuria, como ya han advertido Hartskeerl *et al*. (2011), ese momento no tardará.

Por tanto, sea subvaloración, confianza o indolencia, esta incorrecta percepción de riesgo hacia la leptospirosis abona el terreno a otros elementos con los que se solapa, agravando la situación. Algunos de los mismos se discuten a continuación.

Barreras geográficas y socioeconómicas en tiempos de COVID-19

La extensión de la leptospirosis a nivel mundial obedece, entre otras, a que todos los mamíferos (incluidos pinnípedos y murciélagos), las aves, los anfibios, los reptiles, e incluso los peces, pueden actuar como portadores de serovares patógenos de *Leptospira* spp. (Picardeau 2017). Hecho al que se suma la capacidad del agente de sobrevivir de forma prolongada en embalses de aguas y suelos contaminados con las excreciones de dichos animales (Barragan *et al*. 2017). Algo a lo que se ha prestado alguna atención durante los últimos años, debido a casos y brotes producidos en países industrializados (Saito *et al*. 2012, Marinova-Petkova *et al*. 2019), aunque aún no se valora en toda su dimensión, como se analizará en el tópico correspondiente.

Aunque se ha notificado la presencia de serovares patógenos de *Leptospira* a nivel global, la enfermedad es más común en ambientes cálidos y húmedos como los característicos del Caribe, Latinoamérica, Oceanía y parte de Asia y África. Áreas en las que muestra una manifiesta tendencia al endemismo (Philip *et al*. 2018). Este comportamiento ha ido marcando fronteras que delimitan al conglomerado de países en vías de desarrollo, coincidentes con ese entorno, de aquellos distinguidos por un elevado desarrollo industrial (Guernier *et al*. 2018a, Khattak *et al*. 2018). Estos últimos, sin ser refractarios a la zoonosis como demuestran los casos y brotes reportados (Marinova-Petkova *et al.* 2019, White *et al*. 2017, Tomari *et al.* 2018), la asumen como un riesgo al que se exponen sus ciudadanos cuando, en calidad de turistas, visitan los países subdesarrollados (Hall y Lambourne 2014).

Caso curioso el de Estados Unidos, donde el endemismo de la enfermedad se achaca a casos provenientes de Puerto Rico y Hawaii (Adams *et al*. 2017). En este análisis, sin embargo, se subestiman los casos y brotes generados a partir de cisternas, piscinas y otras variantes de almacenamiento de agua (Marinova-Petkova *et al*. 2017). Otro tanto sucede con la marcada extensión de la zoonosis en perros (White *et al*. 2017, Barreto *et al*. 2019).

En sentido general se podría resumir que la ocurrencia de esta zoonosis en regiones ajenas al trópico se justifica con los viajes de turismo, o de negocios.

Explicación avalada por incontables publicaciones durante años y que, en los más recientes, se complementan con los efectos de la globalización (Khattak *et al*. 2018). Se trata de un mal inherente a la pobreza, sinónimo de insalubridad, deficientes servicios de salud, etc. (Guernier *et al*. 2018a). Es el entorno donde alrededor del 50 % de los sospechosos de Dengue realmente padecen leptospirosis (Mattar *et al*. 2017). Un sesgo que sumado a los casos que no acuden a consultas minimiza la morbilidad y mortalidad ocasionadas por la espiroqueta.

Este fatalismo geográfico, social y económico, imposible de soslayar, solo se revertirá cuando las condicionantes socioeconómicas imperantes también lo hagan. Es paradójico como las potencias industrializadas no vacilan al invertir fondos para desarrollar armas biológicas a partir de *Brucella melitensis*, no así para combatir la enfermedad en las áreas más afectadas del planeta (Chatterjee *et al*. 2017, Barreto *et al*. 2020b).

La actual COVID-19, además de muertes, exacerba la pobreza en los países menos desarrollados y pone en crisis a los industrializados. Paralelamente, al acaparar la atención de todos los sistemas de salud, condena a una mayor desatención a aquellas enfermedades ya subvaloradas como la leptospirosis (IAP 2020). Solo un aspecto positivo emerge en medio esta hecatombe: por primera vez las grandes instituciones de investigación del planeta han olvidado su ego y colaboran en aras de una solución (Ehrenberg *et al*. 2020, IAP 2020). Solo una conducta de este tipo puede marcar la inflexión positiva que se espera; algo así, en un futuro aún impredecible, borrará las barreras que hoy determinan los dominios y sesgos de la leptospirosis.

Nivel de conocimiento del agente etiológico y generalización del mismo

El género *Leptospira*, como tantos otros patógenos bacterianos, luego de su descripción primaria (Stimson 1907) se estudió acorde a sus cualidades y comportamientos fenotípicos. Atendiendo a los mismos tuvo lugar una primera división en dos grupos que fue crucial: patógenos (*Leptospira interrogans sensu lato*) y saprófitos (*Leptospira biflexa sensu lato*) (Levett 2001).

Mucho después, gracias a la disponibilidad de técnicas moleculares, el género se dividió en 21 genomoespecies: nueve patógenas (*L. alexanderi*; *L. weilii*; *L. borgpetersenii*; *L. santarosai*; *L. kmetyi*; *L. alstonii*; *L. interrogans*; *L. kirschneri*; *L. noguchii*), aisladas en su totalidad a partir de humanos y animales; seis intermedias (*L. licerasiae*; *L. wolffii*; *L. fainei*; *L. inadai*; *L. broomii*; *L. idonii*), cuya virulencia al momento de esta clasificación no se había determinado experimentalmente, y una cifra similar confirmada como no patógenas (*L. vanthieli*; *L. biflexa*; *L. wolbachii*; *L. terpstrae*; *L. meyeri*; *L. yanagawae*) propias del medio ambiente (Picardeau 2013, Levett 2015).

Esta nueva concepción de estudio del patógeno centrado en su genoma sacó a la luz que las especies, hasta entonces catalogadas como intermedias y las patógenas compartían un ancestro común cercano, aunque la patogenicidad de las primeras en animales y humanos fuera moderada. También se demostró la presencia de especies patógenas y saprófitas en medios naturales como el suelo húmedo y las aguas superficiales (Andre-Fontaine *et al*. 2015), ambientes en los que podían persistir de forma prolongada gracias a mecanismos como la transducción de señales (Fouts *et al*. 2016) que les permitían resistir las condiciones de estrés. Razón por la que no era desacertado asumir que las especies patógenas evolucionaran de un ancestro saprófito debido a la transferencia horizontal de genes que permitieron su adaptación a nuevos hospederos (Xu *et al*. 2016, Fouts *et al.* 2016, Vincent *et al*. 2019).

Este nuevo enfoque en los estudios sobre el agente etiológico en un breve lapso de tiempo mostró la posibilidad de encontrar nuevas especies patógenas, e incluso intermedias, necesarias para el desarrollo de una herramienta diagnóstica que permitiera censar el comportamiento real de la zoonosis. Para ello era imperativo abundar en la caracterización de *Leptospira* spp. en medios naturales, muy en particular el suelo y aguas superficiales, así como sus interacciones con otras poblaciones microbianas en esos entornos (Picardeau 2017, Guernier *et al.* 2018b, Vincent *et al.* 2019).

El empleo de mezclas antimicrobianas para prevenir las contaminaciones ha permitido el aislamiento de *Leptospira* spp., no reportadas previamente, de suelos y fuentes de agua en diversas áreas

geográficas del planeta (Saito *et al*. 2012, Thibeaux *et al.* 2018). Los hallazgos obtenidos contaron para su estudio con una herramienta contemporánea: las técnicas de secuenciación de nueva generación (*Next-Generation Sequencing* -NGS), modalidad que posibilitó ampliar el número de especies a 35, en una primera etapa (Thibeaux *et al*. 2018). Cifra que el pasado año ascendió a 64 (Vincent *et al*. 2019). Más allá de los valores numéricos, se trata de un salto cualitativo sustentado por una metodología que marca un hito en la taxonomía de *Leptospira*.

Lo revisado resume el salto indiscutible en los conocimientos de *Leptospira* alcanzado con el empleo de técnicas moleculares. También al asumir al suelo y a las aguas superficiales como fuentes primordiales en la transmisión de la zoonosis (Picardeau 2017, Thibeaux *et al*. 2018). Entre las primeras vale destacar el papel desempeñado por las técnicas de secuenciación de nueva generación, una variante que gana adeptos para este tipo de estudio (Vincent *et al*. 2019), pero no se ha podido generalizar por la OMS. Con respecto a las segundas, muy en particular las investigaciones en entornos acuáticos, han evidenciado el papel del fenotipo *biofilm* en la persistencia del agente durante meses. Fenómeno en el que no pueden obviarse sus interacciones con otros microorganismos (Kumar *et al*. 2015, 2016). Algo apenas incipiente, en lo que se ha de profundizar, por lo que se explica a continuación.

Se continúa asumiendo a *Leptospira* en su forma planctónica y no como *biofilm* (Thibeaux *et al*. 2020). Algo que no admite más dilaciones si se tiene en cuenta que este fenotipo representa al 99,9 % de las bacterias en los medios naturales, en tanto solo el 0,01 % permanece como formas planctónicas (Samal y Das 2018). El papel de esta forma de organización, aunque explica lo publicado sobre la supervivencia de *Leptospira* spp. en los medios naturales, no se ha enfocado hacia la virulencia del agente; algo a lo que no se ha prestado la debida atención aún. Cuando se haga es posible que esclarezca algunas conductas en su patogenia como ha sucedido con *Brucella* spp. (Barreto *et al.* 2020b).

Otro elemento sorprendente se suma, y es la causa para que el tópico figure en la presente propuesta. Se trata del incomprensible divorcio entre cuánto se sabe y lo que se sigue haciendo en la mayoría de los centros de diagnóstico del planeta. Una increíble paradoja: la incomunicación en el reinado de la Internet.

Retos y limitaciones en el diagnóstico de la leptospirosis

El diagnóstico de la leptospirosis presupone un reto extra: la ausencia de signos clínicos específicos de la enfermedad. Si a ello se suma la pobre percepción de riesgo de los afectados, su escasa asistencia a los servicios de atención médica y la limitación de las técnicas diagnósticas disponibles en muchos países, el logro de un diagnóstico oportuno y la fiabilidad en las estadísticas de casos resultan una utopía (Al-orry *et al*. 2016, Khattak *et al*. 2018). Con toda justeza, muchos expertos consideran a este tópico el sesgo crítico para un acercamiento al comportamiento real de la zoonosis (Al-orry *et al*. 2016, Vincent *et al*. 2019).

Ante todo, vale recordar algo por obvio que parezca: el diagnóstico temprano de esta zoonosis garantiza la efectividad de los tratamientos con antibióticos. Este es justamente el punto donde lo que parece tan elemental choca con la realidad. Pese a los años dedicados al estudio de esta enfermedad, no se dispone de una herramienta sensible, específica, rápida, de fácil ejecución y bajo costo para su diagnóstico (Al-orry *et al.* 2016).

Los métodos para el diagnóstico de la leptospirosis se dividen en dos grupos: directos e indirectos. Los primeros se encaminan a la detección de la espiroqueta, o sus componentes, en los fluidos corporales o tejidos de las personas o animales investigados. Los microrganismos, previo a la observación, pueden cultivarse en medios para su aislamiento o recuperación, para incrementar su concentración, u observarse directamente a partir de sangre u orina con microscopia de campo oscuro. Se han adecuado variantes del método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la amplificación de restos del ADN de la espiroqueta en fases precoces de la infección. Los métodos indirectos, los más utilizados, se basan en la determinación del nivel de anticuerpos (IgG o IgM) anti-*Leptospira* en sangre. Destacan la técnica de microaglutinación o prueba de aglutinación microscópica (MAT) que, durante años ha constituido la regla de oro en este diagnóstico, así como diversas modalidades de ELISA (Wynwood *et al.* 2016, Al-orry *et al*. 2016).

Se trata de una enfermedad bifásica. En la primera etapa (leptospiremia), que comprende del tercer al décimo día de la infección, previa a la respuesta de anticuerpos se puede aislar al germen de sangre, líquido cerebro espinal y tejidos. En una segunda etapa (convalecencia o estado inmune), también denominada leptospiruria, la orina es la muestra de mayor valor diagnóstico. Cuando las observaciones se hacen a partir de hemocultivos o de la siembra de orina en medios de cultivo, el diagnóstico se retarda notablemente debido a la pobre velocidad de crecimiento del agente etiológico (10 - 14 días) (Haake y Levett 2015).

Alrededor de siete días, luego de la aparición de los síntomas, es que pueden detectarse los anticuerpos de tipo IgM en sangre. Su concentración se incrementa hasta alcanzar picos máximos en la tercera y cuarta semana de iniciado el proceso de infección. Luego de lo cual desciende y se hace indetectable a los seis meses, aunque, excepcionalmente puede persistir por años. La configuración pentamérica de la IgM la hace idónea para ensayos tipo MAT. Las IgG conforman una respuesta más tardía, pero más específica y duradera. Constituyen, generalmente, el elemento a identificar en los sistemas tipo ELISA (Cerqueira y Picardeau 2009).

Se han desarrollado múltiples propuestas para el diagnóstico de las leptospirosis. Como es el tema más abordado al analizar las causas que limitan un acercamiento al impacto real de la enfermedad, se sugiere a quienes deseen abundar en el mismo consultar la propuesta de Al-orry *et al*. (2016). Baste añadir que las PCR podrían ser la opción más adecuada, incluso al compararlas con las variantes indirectas. Posibilitan un diagnóstico preciso durante los primeros síntomas agudos de la enfermedad, antes de la aparición de anticuerpos. Permiten la diferenciación de cepas patógenas de saprófitas, no así la determinación del tipo de serovar. Lamentablemente, su empleo no constituye una norma en este tipo de diagnóstico; son más bien una exclusividad de los laboratorios con un cierto nivel de desarrollo (Al-orry *et al*. 2016).

Un comentario similar se aplicaría a quienes afirman que el futuro inmediato de este diagnóstico apunta a las técnicas de secuenciación de nueva generación por el fácil y creciente acceso a las mismas (Vincent *et al*. 2019). Esas facilidades realmente resultan cuestionables. De una parte, el factor económico, de la otra los inconvenientes subjetivos que imponen las novedades tecnológicas. Lo cierto es que no figuran en ninguna de las publicaciones realizadas en países en vías de desarrollo.

Como ya se ha mencionado, la técnica utilizada oficialmente para el diagnóstico de la leptospirosis es la MAT (Hartskeerl y Smythe 2015). Una variante compleja, trabajosa y demorada. Requiere de 14 a 21 serovares para organizar las baterías según se trate de humanos o especies animales a pesquisar. El mantenimiento de dichas cepas vivas constituye otra complicación agregada y la razón por la que muchos laboratorios y hospitales no utilizan este ensayo (Mgode *et al*. 2015), pese a existir variantes que facilitan la tarea (Philip *et al*. 2018). Entre los que la aplican no siempre utilizan el total de serovares recomendado. O emplean variantes desactualizadas que para nada coinciden como los prevalentes en la actualidad (Barreto *et al.* 2017).

En resumen, ese ensayo ideal: rápido, preciso, sencillo, económico, fácil de interpretar y estable bajo condiciones extremas, aún está por desarrollarse. Mientras, los conocimientos en torno al agente etiológico crecen a una velocidad comparable a la desarrollada por estas espiroquetas para extenderse por el planeta.

Subestimación de algunas especies animales como reservorios

Cuando se escucha la palabra leptospirosis de inmediato se piensa en roedores, muy en particular en ratas y ratones. Sin demeritar su papel en la transmisión de la enfermedad, es preciso recordar que otros grupos de animales, tanto silvestres como domésticos, desempeñan un papel decisivo como reservorios de la entidad bacteriana. Destacan al respecto los carnívoros, los cerdos y los grandes rumiantes (Zaki *et al*. 2018; Barreto *et al*. 2020a, 2020c). De ahí que circunscribir el diagnóstico a los roedores para prevenir la enfermedad en humanos resulta insuficiente (Hagan *et al*. 2016).

Hay tres especies domésticas que generalmente se subestiman, e incluso no se tienen en cuenta en las encuestas epidemiológicas, tanto rutinarias como en las efectuadas ante la presentación de casos y brotes de leptospirosis. Se trata de ovinos, caprinos y equinos (Rodríguez *et al*. 2017a, 2019;

Barreto y Rodríguez 2018a, 2018b). La crianza de las dos primeras constituye la forma gracias a la cual subsisten muchas familias en los países en vías de desarrollo. El estrecho contacto que impone esta forma de producción propicia el contagio directo a las personas involucradas. Impacto minimizado en las estadísticas oficiales por los sesgos que imponen estas omisiones en los diagnósticos (Barreto y Rodríguez 2018b, Zaki *et al.* 2018).

Con los equinos ocurre otro tanto, pese a que en 2013 se demostró mediante PCR la presencia de *Leptospira* spp. en la orina de caballos negativos a hemocultivos y otros ensayos clásicos (Hamond *et al*. 2013). Estudios posteriores pusieron de manifiesto que los equinos muestran un comportamiento como reservorios de la entidad similar al desempeñado por bovinos, porcinos y caninos (Rodríguez *et al.* 2017b). De ahí el alto riesgo epidemiológico que imponen, sobre todo en aquellas ciudades donde se les emplea para el transporte de la población (Rodríguez 2019).

Por supuesto que existen más factores que, en mayor o menor grado, obstruyen el acercamiento y la comprensión de un fenómeno tan complejo como es la leptospirosis. Ojalá otros investigadores se estimulen y hagan un llamado de alerta al respecto. Ese ha sido el propósito al demandar una mayor atención hacia los cinco elementos revisados anteriormente. Si así fuera, se atemperaría el agravamiento de esta zoonosis en medio de la COVID-19.

CONCLUSIONES

Cinco elementos: la subestimación de la zoonosis, las limitaciones diagnósticas, las barreras entre países desarrollados y subdesarrollados, el divorcio entre los nuevos conocimientos sobre *Leptospira* spp. y su difusión, y la subestimación de ovinos, caprinos y equinos como reservorios limitan el acercamiento al comportamiento real de la enfermedad. La aparición de otro agente zoonótico, SARS-CoV-2, acrecentará el impacto silente de la leptospirosis si no se valoran los factores analizados.

Conflicto de intereses

No existen.

LITERATURA CITADA

Adams, DA; Thomas, KR; Jajosky, RA; Foster, L; Baroi, G; Sharp, P; Onweh, DH; Schley, AW; Anderson, WJ; Nationally Notifiable Infectious Conditions Group. 2017. Summary of notifiable infectious diseases and conditions - United States, 2015 (en línea). MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report 64(53):1-143. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/fjkw

Al-orry, W; Arahou, M; Hassikou, R; Mennane, Z. 2016. A review of laboratory diagnosis and treatment of leptospirosis (en línea). International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 8(12):7-13. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/fjrm

Andre-Fontaine, G; Aviat, F; Thorin, C. 2015. Waterborne Leptospirosis: Survival and Preservation of the Virulence of Pathogenic *Leptospira* spp. in fresh water (en línea). Current Microbiology 71:136-42. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/f7dzmc

Barragan, V; Olivas, S; Keim, P; Pearson, T. 2017.Critical knowledge gaps in our understanding of environmental cycling and transmission of *Leptospira* spp (en línea). Applied and Environmental Microbiology 83(19):e01190-17. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/gbqjqg

Barreto, G; Rodríguez, H; García, T; Vázquez, R. 2017. Sugerencias para un diagnóstico más actual de la Leptospirosis (en línea). Revista de Producción Animal 29(3):55-57. Consultado 21 sep. 2020. Disponible en https://bit.ly/35N8pzW

Barreto, G; Rodríguez, H. 2018a. Capítulo 9. Enfermedades bacterianas frecuentes en las cabras. *In* Bidot, A; Paretas, JJ (eds.). Producción del ganado caprino en Cuba. La Habana, Cuba, CIMAGT. p.117-125. ISBN 978-959-7198-17-8.

Barreto, G; Rodríguez, H. 2018b. La leptospirosis en las producciones caprinas. Artículo reseña (en línea). Revista de Producción Animal 30(3):57-62. Consultado 21 sep. 2020. Disponible en https://bit.ly/3lLa1zM

Barreto, G; Rodríguez, H. (2019). Dos zoonosis ancestrales reemergen y se complementan (en línea). Revista de Producción Animal 31(1):58-60. Consultado 21 sep. 2020. Disponible en https://bit.ly/3kQIonM

Barreto, G; Rodríguez, H; García, T; Vázquez, R. 2019. Posible subvaloración del estado de la leptospirosis canina en Camagüey (en línea). Revista de Producción Animal 31(2). Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://bit.ly/3bG7p1K

Barreto, G; Rodríguez, H; García, T; Vásquez, R. 2020a. Comportamiento de la leptospirosis en reactores positivos porcinos y humanos durante un decenio en Camagüey (en línea). Revista de Salud Animal 42(2):1-4. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://bit.ly/3kLGcOp

Barreto, G; Rodríguez, H; Barreto, H. 2020b. Brucelosis, aspectos que limitan la aproximación real a esta zoonosis; papel de las cabras (en línea). Revista de Producción Animal 32(3). Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://bit.ly/3pAQogh

Barreto, G; Rodríguez, H; García, T; Vázquez, R. 2020c. Animales domésticos como reservorios de *Leptospira* en Camagüey, papel de los bovinos (en línea) Zootecnia Tropical. 38:e4021326. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/fjnc

Cerqueira, GM; Picardeau, M. 2009. A century of Leptospira strain typing (en línea). Infection, Genetics and Evolution 9(5):760-768. Consultado 21 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/bqbkk4

Chatterjee, P; Bhaumik, S; Chauhan, AS; Kakkar, M. 2017. Protocol for Developing a Database of Zoonotic Disease Research in India (DoZooRI) (en línea). BMJ Open 7(1):17-25. Consultado 21 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/gcn43g

Costa, F; Martinez-Silveira, MS; Hagan, JE; Hartskeerl, RA; dos Reis, MG; Ko, AI. 2012. Surveillance for leptospirosis in the Americas, 1996-2005: a review of data from ministries of health. Revista Panamericana de Salud Pública 32(3):169-177.

Ehrenberg, JP; Zhou, XN; Fontes, G; Rocha, EMM; Tanner, M; Utzinger, J. 2020. Strategies supporting the prevention and control of neglected tropical diseases during and beyond the COVID-19 pandemic (en línea). Infectious Diseases of Poverty. 9(86): 1-7. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/gg4hw3

Fouts, DE; Matthias, MA; Adhikarla, H; Adler, B; Amorim-Santos, L; Berg, DE; Bulach, D; Buschiazzo, A; Chang, Y; Galloway, RL; Haake, DA; Haft, DH; Hartskeerl, R; Ko, AI; Levett, PN, Matsunaga, J; Mechaly, AE; Monk, JM; Nascimento, ALT; Nelson, KE; Palsson, B; Peacock, SJ; Picardeau, M; Ricardi, JN; Thaipandungpanit, J; Wunder Jr., EA; Yang, XF; Zhang, JJ; Vinetz, JM. 2016. What Makes a Bacterial Species Pathogenic?: Comparative Genomic Analysis of the Genus *Leptospira* (en línea). PLoS Neglected Tropical Diseases. 10(2):e0004403. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/fjm8

Ghazaei, C. 2018. Pathogenic *Leptospira*: Advances in understanding the molecular pathogenesis and virulence (en línea). Open Veterinary Journal 8(1):13-24. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/fjsq

Guernier, V; Goarant, C; Benschop, J; Lau, CL. 2018a. A systematic review of human and animal leptospirosis in the Pacific Islands reveals pathogen and reservoir diversity (en línea). PLoS Neglected Tropical Diseases 12(5):e0006503. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/gdjnj3

Guernier, V; Allan, KJ; Goarant, C. 2018b. Advances and challenges in barcoding pathogenic and environmental *Leptospira* (en línea). Parasitology 145(5):595-607. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/gbncb6

Haake, DA; Levett PN. 2015. Leptospirosis in humans (en línea). *In* Adler, B (ed.). *Leptospira* and Leptospirosis. Berlin, Alemania, Springer. p.65-97. Current Topics in Microbiology and Immunology. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/bmhq

Hagan, JE; Moraga, P; Costa, F; Capian, N; Ribeiro, GS; Wunder Jr., EA; Felzemburgh, RDM; Reis, RB; Nery, N; Santana, FS; Fraga, D; dos Santos, BL; Santos, AC; Queiroz, A; Tassinari, W; Carvalho, MS; Reis, MG; Diggle, PJ; Ko, AI. 2016. Spatiotemporal Determinants of Urban Leptospirosis Transmission: Four-Year Prospective Cohort Study of Slum Residents in Brazil (en línea). PLoS Negleted Tropical Diseases 10(1):e0004275. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/f8fz2v

Hall, C; Lambourne, J. 2014. The Challenges of Diagnosing Leptospirosis (en línea). Journal of

Travel Medicine 21(2):139-140. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/fjr2

Hamond, C; Martins, G; Lawson-Ferreira, R; Medeiros, MA; Lilenbaum, W. 2013. The role of horses in the transmission of leptospirosis in an urban tropical area (en línea). Epidemiology and Infection 141(1):33-35. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/f4g4fh

Hartskeerl, RA; Collares-Pereira, M; Ellis, WA. 2011. Emergence, control and re-emerging leptospirosis: dynamics of infection in the changing world (en línea). Clinical Microbiology Infection 17(4):494-501. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/fhrgfz

Hartskeerl, RA; Smythe, LD. 2015. The role of leptospirosis reference laboratories (en línea). *In* Adler, B (ed.). *Leptospira* and Leptospirosis. Berlin, Alemania, Springer. p.273-288. Current Topics in Microbiology and Immunology. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/fjnf

Inter Academy Partnership (IAP). 2020. Call for Global Solidarity on COVID-19 Pandemic (en línea, sitio Web). Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://bit.ly/32ZkK2q

Khamassi Khbou, M; Haouala, K; Benzarti, M. 2017. High frequency of seropositivity of *Leptospira* in cattle in North Tunisia (en línea). Veterinary Medicine and Science Open Access 3(1):13-21. Consultado 21 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/fjr3

Khattak, BM; Khan, SJ; Khan, A. 2018. Leptospirosis: A disease with global prevalence (en línea). Journal of Microbiology & Experimentation 6(5):219-221. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/fjcd

Kumar, KV; Lall, C; Raj, RV; Vedhagiri, K; Vijayachari, P. 2015. Coexistence and survival of pathogenic leptospires by formation of biofilm with *Azospirillum* (en línea). FEMS Microbiology Ecology 91(6):1-11: fiv051. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/f7ngrh

Kumar, KV; Lall, C; Raj, RV; Vedhagiri, K; Vijayachari, P. 2016. Molecular detection of pathogenic leptospiral protein encoding gene (lipL32) in environmental aquatic biofilms (en línea). Letters in Applied Microbiology 62(4):311-315. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/f8gc8x

Levett, PN. 2001. Leptospirosis (en línea). Clinical Microbiology Reviews 14(2):296-326. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/fgtwkb

Levett, PN. 2015. Systematics of Leptospiraceae (en línea). *In* Adler, B (ed.). *Leptospira* and Leptospirosis. Berlin, Alemania, Springer. p.11-20. Current Topics in Microbiology and Immunology. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/fjk6

Lunn, KF. 2018. Overview of Leptospirosis. The Merck Veterinary Manual. (en línea). Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://mrkmnls.co/2UyxqID

Marinova-Petkova, A; Guendel, I; Strysko, JP; Ekpo, LL; Galloway, R; Yoder, J; Kahler, A; Artus, A; Hoffmaster, AR; Bower, WA; Walke, H; Ellis; BR; Hunte-Ceasar, T; Ellis, EM; Schafer, IJ. 2019 (en línea). First Reported Human Cases of Leptospirosis in the United States Virgin Islands in the Aftermath of Hurricanes Irma and Maria, September-November 2017. Open Forum Infectious Diseases 6(7):ofz261. Consultado 21 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/fjg8

Mattar, S; Tique, V; Miranda, J; Montes, E; Garzon, D. 2017. Undifferentiated tropical febrile illness in Cordoba, Colombia: Not everything is dengue (en línea). Journal of Infection and Public Health 10(5):507-512. Consultado 21 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/c3bg

Mgode, GF; Machang'u, RS; Mhamphi, GG; Katakweba, A; Mulungu, LS; Durnez L; Leirs, H; Hartskeerl, RA; Belmain, SR. 2015. *Leptospira* Serovars for Diagnosis of Leptospirosis in Humans and Animals in Africa: Common Leptospira Isolates and Reservoir Hosts (en línea). PLoS Neglected Tropical Diseases 9(12):e0004251. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/f77mbs

Musso, D; Roche, C; Marfel, M; Bel, M; Nilles, EJ; Cao-Lormeau, VM. 2014. Improvement of leptospirosis surveillance in remote Pacific islands using serum spotted on filter paper (en línea). International Journal Infectious Disease 20:74-76. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/f2qd6k

Nantawan, Y; Rattanawat, C. 2019. Factors Associated with Leptospirosis in Domestic Cattle in Salakphra Wildlife Sanctuary, Thailand (en línea). International Journal of Environmental Research and Public Health. 16(6):1042. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/fh9s

Philip, N; Garba, B; Neela, VK. 2018. Long-term preservation of *Leptospira* spp.: challenges and prospects (en línea). Applied Microbiology and Biotechnology 102(13):5427–5435. Consultado 22 sep 2020. Disponible en https://doi.org/gdsqgs

Picardeau, M. 2013. Diagnosis and Epidemiology of Leptospirosis (en línea). Medecine et Maladies Infectieuses 43(1):1-9. Consultado 22 sep 2020. Disponible en https://doi.org/f4rqwq

Picardeau, M. 2017. Virulence of the zoonotic agent of leptospirosis: still terra incognita? (en línea). Nature Reviews Microbiology 15:297–307. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/fjb7

Rodríguez, H; Barreto, G; García, T; Vázquez, R. 2017a. Animales domésticos como reservorios de la Leptospirosis en Camagüey; papel de la especie equina (en línea). Revista Electrónica de Veterinaria 18(4):1-9. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://bit.ly/3m48k0L

Rodríguez, H; Barreto, G; García, T; Vázquez, R. 2017b. Animales domésticos como reservorios de la Leptospirosis en Camagüey, papel de los cerdos (en línea). Revista de Producción Animal 29(3):12-15. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://bit.ly/36SBp8W

Rodríguez, H; Barreto, G; García, T; Vázquez, R. 2019. Comportamiento estacional de la leptospirosis en equinos durante un decenio en Camagüey (en línea). Revista de Producción Animal 31(2). Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://bit.ly/33dpqkx

Rodríguez, H. 2019. Los equinos, al actuar como reservorios de *Leptospira*, pueden ser un riesgo al humano (en línea). Revista Archivo Médico de Camagüey 23 (3):293-295. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://bit.ly/36RjcIR

Saito, M; Villanueva, SYAM; Kawamura, Y; Lida, KI; Tomida, J; Kanemaru, T; Kohno, E; Miyahara, S; Umeda, A; Amako, K; Gloriani, NG, Yoshida, SI. 2013. *Leptospira idonii* sp. nov., isolated from an environmental water in Fukuoka, Japan. (en línea). International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 63 pt. 7:2457-2462. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/fjb5

Samal, S; Das, PK. 2018. Microbial Biofilms: Pathogenicity and Treatment strategies (en línea). PharmaTutor 6(1):16-22. Consultado 21 sep. 2020. Disponible en https://bit.ly/3fe3M4Y

Stimson, AM. 1907. Note on an organism found in Yellow-Fever tissue (en línea). Public Health Reports 22(18):541. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/ckv55x

Thibeaux, R; Girault, D; Bierque, E; Soupé-Gilbert, ME; Rettinger, A; Douyère, A; Meyer, M; Iraola, G; Picardeau, M; Goarant, C. 2018. Biodiversity of Environmental *Leptospira*: Improving Identification and Revisiting the Diagnosis (en línea). Front Microbiol 9:816. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/gdjk3z

Thibeaux, R; Soupé-Gilbert, ME; Kainiu, M; Girault, D; Bierque, E; Fernandes, J; Bähre, H; Douyère, A; Eskenazi, N; Vihn, J; Picardeau, M; Goarant, C. 2020. The zoonotic pathogen *Leptospira interrogans* mitigates environmental stress through cyclic-di-GMP-controlled biofilm production (en línea). npj Biofilms and Microbiomes 6:24. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/fjb9

Tomari, K; Toyokawa, T; Takahashi, T; Kakita, T; Okano, S; Kyan, H; Tonegawa, N; Okawa, T; Matsuoka, T; Matsumora, T. 2018. Childhood leptospirosis in an industrialized country: Population-based study in Okinawa, Japan (en línea). PLoS Neglected Tropical Diseases 12(3):e0006294. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/gc6hf7

Torres-Castro, M; Hernández-Betancourt, S; Agudelo-Florez, P; Arroyave-Sierra, P; Zavala-Castro, J; Puerto, FI. 2018. Leptospirosis: enfermedad zoonótica endémica en América. Salud i Ciencia 22(8):778-780.

Vincent, AT; Schiettekatte, O; Goarant, C; Neela, VK; Bernet, E; Thibeaux, R; Ismail, N; Khalid, MK; Amran, F; Masuzawa, T; Nakao, R; Korba, AA; Bourhy, P; Veyrier, FJ; Picardeau, M. 2019.

Revisiting the taxonomy and evolution of pathogenicity of the genus *Leptospira* through the prism of genomics (en línea). PLOS Neglected Tropical Diseases 13(5):e0007270. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/ghg4zf

Wasiński, B; Dutkiewicz, J. 2013. Leptospirosis - current risk factors connected with human activity and the environment (en línea). Annals of Agricultural and Environmental Medicine 20(2):239-244. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://bit.ly/35JMdXs

White, AM; Zambrana-Torrelio, C; Allen, T; Rostal, MK; Wright, AK; Ball, EC; Daszak, P; Karesh, WB. 2017. Hotspots of canine leptospirosis in the United States of America (en línea). The Veterinary Journal 222:29-35. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/f977rw

Wynwood, SJ; Burns, MA; Graham, GC; Weier, SL; McKay, DB; Craig, SB. 2016. Serological diagnosis of Leptospirosis in bovine serum samples using a microsphere immunoassay (en línea). Veterinary Record Open 3(1):e000148. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/fh9t

Xu, Y; Zhu, Y; Wang, Y; Chang, YF; Zhang, Y; Jiang, X; Zhuang, X; Zhu, Y; Zhang, J; Zeng, L; Yang, M; Li, S; Wang; S; Ye, Q; Xin, X; Zhao, G; Zheng, H; Guo, X; Wang, J. 2016. Whole genome sequencing revealed host adaptation-focused genomic plasticity of pathogenic *Leptospira* (en línea). Scientific Report 6:20020. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://doi.org/fjnb

Zaki, AM; Rahim, MAA; Azme, MH; Mahmood, NA; Jeffree, MS; Ghazi, HF; Hassan, MR. 2018. Animal Reservoirs for *Leptospira* spp. in South-East Asia: A Meta-Analysis (en línea). Journal of Advanced Research in Medicine 5(3):23-31. Consultado 22 sep. 2020. Disponible en https://bit.ly/2INeJ1U

Animales domésticos como reservorios de *Leptospira* spp. en Camagüey, Cuba: papel de los bovinos

Guillermo Barreto Argilagos[1]*, Herlinda de la Caridad Rodríguez Torrens[1], Roberto Vázquez Montes de Oca[1], Tatiana García Casas[1]

[1]Universidad de Camagüey Ignacio Agramonte Loynaz (UCIAL). Camagüey, Cuba. Correo electrónico: guillermo.barreto@reduc.edu.cu

RESUMEN

La leptospirosis es la zoonosis bacteriana más extendida en el planeta; muchas especies animales domésticas son afectadas y actúan como reservorios. Para evaluar el papel de los animales domésticos como reservorios de *Leptospira* spp. en Camagüey, Cuba, con énfasis en los bovinos, se investigaron los sueros provenientes de 2.659 bovinos, 2.617 equinos, 1.820 porcinos, 75 ovinos-caprinos y 69 caninos, de esta provincia, mediante la prueba de aglutinación microscópica (MAT). Para caballares, cerdos y perros se usaron los serovares Icterohaemorrhagiae, Canicola, Ballum, Australis, Pomona y Tarassovi como antígenos; mientras que para vacunos y ovinos-caprinos se emplearon Icterohaemorrhagiae, Canicola, Ballum, Pomona, Hebdomadis y Sejroe. La variable estudiada fue "proporción de reactores por especie". La investigación demostró que bovinos, porcinos, caninos y equinos prevalecieron como reactores positivos a *Leptospira* spp., con un comportamiento similar que se diferenció significativamente de los pequeños rumiantes. La participación del ganado vacuno como reservorio de la entidad analizada, podría ser mayor si se actualizara la batería de serovares utilizada en la MAT. Sería conveniente, al menos, la incorporación del serovar Hardjo en las pesquisas de leptospirosis a bovinos. Se concluye que bovinos, porcinos, caninos y equinos muestran una participación elevada y semejante como reservorios de la leptospirosis en Camagüey.

Palabras clave: leptospirosis, enfermedades bacterianas, spirochaetales, serología, zoonosis.

Domesticated animals as reservoirs of *Leptospira* spp. in Camaguey, Cuba: role of bovines

ABSTRACT

Leptospirosis is the must extended zoonosis in the planet; many domestic animals are affected and act as reservoirs. To evaluate the role of domestic animals as reservoirs of *Leptospira* spp. in Camagüey, with emphasis on cattle, were tested by microagglutination test (MAT) the sera from 2,659 cattle; 2,617 equines; 1,820 pigs; 75 sheep-goats and 69 canines, all of this province. For horses, pigs and dogs the serovars Icterohaemorrhagiae, Canicola, Ballum, Australis, Pomona and Tarassovi were used as antigens; for cattle and sheep-goats were Icterohaemorrhagiae, Canicola, Ballum, Pomona, Hebdomadis and Sejroe. The studied variable was "proportion of reactors per species". The investigation showed that bovines, pigs, canines and equines prevailed as positive reactors to *Leptospira* spp., with a similar behavior that differed significantly from the small ruminants. The participation of cattle, as reservoirs of the analyzed entity, could be higher if the composition of serovars used in microagglutination were update. Incorporate at least the Hardjo serovar is required in bovine leptospirosis investigations. It is concluded that bovine, porcine, canine and equine show a high and similar participation as reservoirs of leptospirosis in Camagüey.

Key words: leptospirosis, bacterial diseases, spirochaetales, serology, zoonosis.

Recibido: 08/06/2020 - Aprobado:25/08/2020

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es la zoonosis más extendida en el mundo durante este milenio. Anualmente se reportan 1,03 millones de casos humanos severos. Cifra que se considera inferior a la realidad debido, entre otras, a limitaciones inherentes a las técnicas de diagnóstico aplicadas (Ghazaei 2018). Se ha mencionado la inexistencia de una herramienta sensible, específica, rápida, de fácil ejecución y bajo costo a tal fin (Waleed *et al.* 2016).

El efecto de la leptospirosis en la esfera animal es motivo de preocupación por las cuantiosas pérdidas económicas que ocasiona cada año, afectando tanto a países desarrollados como en vías de desarrollo (Ghazaei 2018). A pesar de que en muchas investigaciones se hegemoniza el papel de los roedores en la transmisión de la leptospirosis, no puede descartarse a toda una gama de especies de animales domésticos, devenidos a lo largo de centurias como reservorios naturales de la espiroqueta (Rodríguez *et al*. 2017a, 2017b; Barreto y Rodríguez 2018; Barreto *et al*. 2019).

El ganado vacuno con frecuencia se ve afectado por los serovares Australis y Sejroe de *Leptospira* spp., que afectan las producciones lecheras y de carne, e igualmente son patógenos para los humanos (Maze *et al*. 2018). A esta lista de riesgo pueden sumarse porcinos, caninos, equinos y ovinos-caprinos (Rodríguez *et al.* 2017a, 2017b; Barreto y Rodríguez 2018). Su participación relativa en la transmisión de la zoonosis no se ha esclarecido del todo, ya que resulta muy variable al estar influenciada por factores veterinarios, ecológicos y sociales (Guernier *et al.* 2018).

La región del Caribe es una de las más afectadas por esta zoonosis que impacta tanto a humanos como a una diversidad de especies animales domésticos (Peters *et al.* 2017). Cuba no escapa a la enfermedad, aunque el grueso de las publicaciones se enfoca al impacto en los humanos (Obregón Fuentes 2017). La provincia de Camagüey tiene la mayor actividad ganadera de Cuba, por ello, esta propuesta tuvo como objetivo evaluar el papel de los animales domésticos como reservorios de *Leptospira* spp. en Camagüey, Cuba, con énfasis en los bovinos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los ensayos serológicos se realizaron en el Laboratorio Provincial de Sanidad Animal de la ciudad de Camagüey.

Estudio serológico

Los sueros procedentes de 2.659 bovinos, 2.617 equinos, 814 porcinos, 75 ovinos y caprinos y 69 caninos, de la provincia de Camagüey (Figura 1), se investigaron mediante la prueba de aglutinación microscópica (Microagglutination Test - MAT) para establecer la presencia de reactores a *Leptospira* spp., así como a los serovares de mantenimiento de cada una de las especies estudiadas.

Figura 1. Provincia de Camagüey. Cuba. Adaptado de https://mapamundi.online/caribe-antillas/cuba/

La batería para bovinos y ovinos–caprinos estuvo compuesta por los serovares: Icterohaemorrhagiae, Canicola, Ballum, Pomona, Hebdomadis y Sejroe. Para equinos, porcinos y caninos se utilizaron: Icterohaemorrhagiae, Canicola, Ballum, Australis, Pomona y Tarassovi. En todas las especies se asumieron como positivos los reactivos a títulos 1/100, excepto en bovinos cuyo valor prefijado fue 1/200 (Puentes *et al*. 2009).

Variable estudiada

Se evaluó la variable "proporción de reactores por especie", aun cuando la mayoría de las investigaciones en esta temática emplean "número de muestras positivas" cuando comparan el comportamiento de los posibles reservorios de *Leptospira* spp. No obstante, se ha demostrado que esta variable no muestra una distribución normal y su utilización puede conllevar

a errores que enmascaran el comportamiento real de la zoonosis y sus fuentes de transmisión (Barreto *et al*. 2017a). Por esa razón se utilizó la variable "proporción de reactores", una vez validada su fiabilidad.

Análisis estadístico

La variable "proporciónde reactores por especie" fue evaluada mediante un análisis de varianza simple (ANOVA). Se utilizó el test de comparación múltiple de Duncan para establecer las diferencias entre las medias de la variable "proporción de reactores por especie". En todas las determinaciones se usó el paquete estadístico profesional IBM-SPSS-Statistics Versión 21(IBM 2012).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del ANOVA se muestran en el Cuadro 1. La variable "proporción de reactores por especie" mostró una distribución normal y resultó altamente significativa (P=0,00). Este resultado demuestra la fiabilidad de la variable para este tipo de estudio.

La prueba de comparación entre las proporciones de reactores de cada especie demostró que bovinos, equinos, porcinos y caninos no difieren significativamente entre sí como reactores positivos a *Leptospira* spp., en tanto todos lo hacen con respecto a ovinos–caprinos, que son las especies como menor participación en el fenómeno estudiado (Figura 2).

Cuadro 1. Resultados del ANOVA simple para la variable "proporción de reactores por especie"

Causas de variación	SC (III)	GL	MC	F	Sig.
Constante del modelo	28,979	1	28,979	383,836	***
Especie	1,610	4	0,403	5,332	***
Error	23,631	313	0,075		
Total	67,370	318			

SC (III): Suma de Cuadrados (tipo III); GL: Grados de libertad; MC: Media cuadrática; F: Estadístico F; Sig.: Significación estadística (P<0,0001)

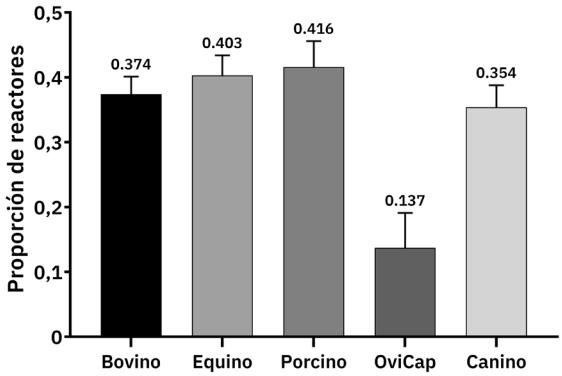


Figura 2. Proporción de reactores a *Leptospira* spp. en las diferentes especies evaluadas

Este resultado equipara a la especie bovina con porcinos y caninos, dos reservorios por excelencia de *Leptospira* spp. Esta triada desempeña un papel protagónico en la reemergencia de esta zoonosis, al fungir como hospederos de mantenimiento (Thayaparan *et al*. 2013). Es posible que en otros estudios algunos tengan una mayor o menor participación, lo cual está influenciado por factores geográficos, sociales, eficiencia de los sistemas de diagnóstico y la capacitación del personal involucrado, entre otros (Wilson-Welder *et al*. 2016; Rodríguez *et al*. 2017a; Barreto *et al.* 2019).

El comportamiento de los equinos aunque puede ser llamativo, concuerda con lo notificado durante el último decenio. Así mismo, presentó una conducta similar al de las otras tres especies animales (Hamond *et al.* 2013). En Camagüey, los equinos constituyen un gran riesgo en la cadena de transmisión de la enfermedad al humano, debido a que una elevada cifra de estos animales se emplea para el transporte urbano (Rodríguez *et al.* 2017b, 2019).

La especie porcina ha figurado durante años entre los principales reservorios de la espiroqueta a nivel internacional (Azócar-Aedo *et al*. 2014). En Camagüey la situación puede ser más preocupante dado el elevado número de estos animales en las denominadas "crianzas de traspatio". La mayor parte de las personas involucradas en estos sistemas no cuentan con la debida experiencia y tampoco utilizan con regularidad, la atención veterinaria especializada.

Por tales motivos, estas pequeñas formas de producción pueden constituir un alto riesgo para la transmisión de la enfermedad, muy en particular a los involucrados en la tarea y vecinos aledaños (Rodríguez *et al.* 2017a).

Históricamente, la leptospirosis ha sido asumida como una enfermedad propia de caninos, antes de la evidencia de la afectación de otras especies, incluida la humana. Por esta razón, aún es considerada por muchos como uno de los principales reservorios de esta entidad (Azócar-Aedo *et al*. 2014). Es importante tener en cuenta que es un problema al que no escapan ni los países desarrollados como Estados Unidos. No obstante, se destaca entre las zoonosis subvaloradas (White *et al.* 2017; Barreto *et al*. 2019).

Al binomio ovino-caprino se le consideraba un reservorio poco frecuente, al punto que instituciones como la Organización Mundial de la Salud (OMS), y su homóloga en las Américas la Organización Panamericana de la Salud (OPS) no los incluyeron como un riesgo mayor para la salud humana (OMS/OPS 2008). Esta concepción errónea persistió paralelamente a la supuesta resistencia de estas especies a la enfermedad (Rodríguez *et al*. 2017a), sin embargo, el tiempo y la labor investigativa evidenciaron que, en especial los caprinos, pueden contraer la enfermedad y trasmitirla al hombre (Rizzo *et al*. 2017). Por esto, dado el creciente número de productores en el país dedicado a la crianza de ambas especies y su potencial como reservorios de la entidad analizada, no debe descuidarse su vigilancia (Barreto y Rodríguez 2018).

Respecto a los bovinos, es importante tener en cuenta que el ecosistema presente en Cuba puede ser favorable para la transmisión de la leptospirosis, tal como se demuestra en un estudio que abarca desde enero de 1947 hasta junio de 2017, en un conglomerado de islas en el océano Pacífico. Estos autores destacan que aun con variaciones de una isla a otra, bovinos y porcinos destacan entre las especies domésticas que actúan como reservorios en la cadena epidemiológica que compromete al humano (Guernier *et al.* 2018).

Según las estadísticas de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) e instituciones de países de Latino América y el Caribe (LAC), la leptospirosis en bovinos fue causa de importantes pérdidas económicas durante el período comprendido entre 2002 y 2014. Su prevalencia se centró en Argentina, Brasil, Colombia, Cuba, Perú, Trinidad y Tobago y Venezuela. Los serovares más frecuentes, de acuerdo a la MAT, fueron Hardjo, Wolfii y Tarassovi (Petrakovsky *et al*. 2014).

En una investigación en la que se evaluó el comportamiento de la leptospirosis en la región del Caribe durante el período de 1973 a 2013, refirió el diagnóstico de la enfermedad en ganado vacuno en varios de los países pesquisados. De igual forma, mostró que los serovares más frecuentes fueron Canicola, Hardjo, Sejroe, Autumnalis y Cynopteri. En referencia a Cuba, aunque citan cifras de brotes ocurridos en personas durante el año 2005, no aparece ninguna información de lo ocurrido en animales (Peters *et al.* 2017).

En un compendio sobre leptospirosis en humanos y animales realizado por Allan *et al*. (2015), se evidenció la mayor participación de las especies *Leptospira borgpetersenii*, *Lepstospira interrogans* y *Leptospira kirschneri*, y el papel del ganado vacuno como portadores de los serovares Autumnalis, Canicola, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Pomona y Pyrogenes. En la investigación que abarcó 97 estudios en África, los autores recomiendan la realización de nuevas investigaciones, bajo el enfoque de "Una Salud", que integren elementos humanos, animales y ambientales para una mejor compresión de la epidemiología de esta zoonosis

Por otra parte, estudios realizados por Yatbantoong y Chaiyarat (2019) revelaron que en diversos países asiáticos, la presencia de esta zoonosis va en ascenso. De igual modo, determinaron que el ganado vacuno representa un potencial riesgo para la transmisión a los humanos, en particular para aquellos vinculados profesionalmente a estos sistemas de producción. Además, se establecieron otros elementos que contribuyen a expandir el fenómeno analizado, entre los que figuran el tamaño del rebaño, el patrón de cría en las estaciones seca y húmeda, la distancia de pastoreo, la permanencia del ganado en la granja, la introducción de relevos y la presencia de mascotas en la granja.

A pesar de los años transcurridos, aún resulta válido el criterio de Bolin (2005) en cuanto a que los serovares de mayor importancia en ganado vacuno son

Hardjo y Pomona para América del Norte, América del Sur, Australia y Nueva Zelandia; en tanto que para Europa lo es Hardjo en exclusiva. En Estados Unidos la seroprevalencia (título de anticuerpos aglutinantes > 100) acorde al serovar, se ha estimado en: 29 % Hardjo; 23 % Pomona; 19 % Icterohaemorrhagiae y 11% Canicola. Esta investigadora, a manera de generalización, puntualiza que Hardjo provoca la mayoría de las infecciones de los vacunos en todo el mundo, convirtiéndolos en sus principales reservorios.

El serovar Hardjo no se incluye en las baterías utilizadas en Cuba para pesquisar sueros bovinos; esto resulta controversial dado que Puentes *et al.* (2009), consideran este serovar como de distribución universal. En alcance a esta disposición nacional, Hardjo tampoco se utilizó en este estudio. Su omisión, al igual que la de otros serovares cuya inclusión se ha sugerido al Laboratorio Provincial de Sanidad Animal (Barreto *et al*. 2017b), podría enmascarar el impacto real de los reactores bovinos en el contexto camagüeyano, pese a lo alarmante de los resultados previamente discutidos.

CONCLUSIONES

La mayor proporción de reactores positivos a *Leptospira* spp. en Camagüey, Cuba, correspondió a las especies bovina, porcina, canina y equina, sin diferencias significativas entre ellas.

El binomio ovino-caprino presentó la menor proporción de reactores positivos a *Leptospira* spp. con diferencias significativas respecto a las especies bovina, porcina, canina y equina.

Es necesario actualizar las baterías utilizadas en los ensayos de microaglutinación con serovares como Hardjo, principalmente en la especie bovina, cuya presencia es elevada en otras regiones del mundo.

Los bovinos, porcinos, caninos y equinos muestran una participación elevada y semejante como reservorios de la leptospirosis en Camagüey.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su gratitud al personal del Laboratorio Provincial de Sanidad Animal de la ciudad de Camagüey que colaboró para el desarrollo de esta investigación.

LITERATURA CITADA

Allan, KJ; Biggs, HM; Halliday, JEB; Kazwala, RR; Maro, VP; Cleveland, S; Crumpp, JA. 2015. Epidemiology of Leptospirosis in Africa: A Systematic Review of a Neglected Zoonosis and a Paradigm for 'One Health' in Africa (en línea). PLoS Neglected Tropical Diseases 9(9):e0003899. Consultado 7 jun. 2020. Disponible en https://bit.ly/3bHNO1h

Azócar-Aedo, L; Smits, HL; Monti, G. 2014. Leptospirosis in dogs and cats: epidemiology, clinical disease, zoonotic implications and prevention (en línea). Archivos de medicina veterinaria 46(3):337-348. Consultado 7 jun. 2020. Disponible en https://bit.ly/2R8vrcl

Barreto, G; Rodríguez, H; García, T; Vázquez, R. 2017a. Reservorios de leptospirosis en Camagüey, dos resultados, una misma base de datos. MEDISAN 21(10):3020-3026.

Barreto, G; Rodríguez, H; García, T; Vázquez, R. 2017b. Sugerencias para un diagnóstico de la leptospirosis más actual. Revista de Producción Animal 29(3):16-18.

Barreto, G; Rodríguez, H. 2018. La leptospirosis en las producciones caprinas. Revista de Producción Animal 30(3):57-62.

Barreto, G; Rodríguez, H; García, T; Vázquez, R. 2019. Posible subvaloración del estado de la leptospirosis canina en Camagüey (en línea). Revista de Producción Animal 31(2). Consultado 7 jun. 2020. Disponible en https://bit.ly/3bG7p1K

Bolin, CA. 2005. Leptospirosis in cattle: disease review and update (en línea). In North American Veterinary Conference (2005, Orlando, Estados Unidos). Proceeding. Gainesville, Estados Unidos. Eastern States Veterinary Association. Consultado 7 jun. 2020. Disponible en https://bit.ly/2DLdygU

Ghazaei, C. 2018. Pathogenic *Leptospira*: Advances in understanding the molecular pathogenesis and virulence. Open Veterinary Journal 8(1):13-24.

Guernier, V; Goarant, C; Benschop, J; Lau, CL. 2018. A systematic review of human and animal leptospirosis in the Pacific Islands reveals pathogen and reservoir diversity (en línea). PLoS Neglected

Tropical Diseases 12(5):e0006503. Consultado 7 jun. 2020. Disponible en https://bit.ly/2R7dCL2

Hamond, C; Martins, G; Lawson-Ferreira, R; Medeiros, MA; Lilembaum, W. 2013. The role of horses in the transmission of leptospirosis in an urban tropical area. Epidemiology and Infection 141 (1):33-35.

IBM Corp. 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. (programa informático). Armonk, Estados Unidos de América.

Maze, MJ; Cash-Goldwasser, S; Rubach, MP; Biggs, HM; Galloway, RL; Sharples KJ; et al. 2018. Risk factors for human acute leptospirosis in northern Tanzania (en línea). PLoS Neglected Tropical Diseases 12(6):e0006372. Consultado 7 jun. 2020. Disponible en https://bit.ly/328gUDO

Obregón Fuentes, AM. 2017. Avances de laboratorio sobre la leptospirosis humana en Cuba, 1989-2016. Revista Cubana de Medicina Tropical. 69(3):1-18.

OMS (Organización Mundial de la Salud); OPS (Organización Panamericana de la Salud). 2008. Leptospirosis humana: guía para el diagnóstico, vigilancia y control (en línea). Río de Janeiro, Brasil. VP/OPS/OMS. 127 p. Serie de Manuales técnicos, 12. Consultado 7 jun. 2020. Disponible en https://bit.ly/2FiuoUu

Peters, A; Vokaty, A; Portch, R; Gebre Y. 2017. Leptospirosis in the Caribbean: a literature review (en linea). Revista Panamericana de Salud Pública 41:e166. Consultado 7 jun. 2020. Disponible en doi:10.26633/RPSP.2017.166

Petrakovsky, J; Bianchi, A; Fisun, H; Ájeraaguilar, P; Pereira, M. 2014. Animal Leptospirosis in Latin America and the Caribbean Countries: Reported Outbreaks and Literature Review (2002-2014). International Journal of Environmental Research and Public Health 11(10):770-789.

Puentes, T; Encinosa, A; Pérez, G; Urquiaga, R. 2009. Programa para la Prevención y Control de la Leptospirosis en Cuba. Instituto de Medicina Veterinaria. Ciudad de La Habana. pp.8.

Rizzo, H; da Silva, TR; Carvalho, JS; Marinho, FA; Santos, HD; Silva Júnior, WS; Aleman, MAR; Pinheiro Júnior, JW; Castro, V. 2017. Frequency of and Risk Factors Associated to *Leptospira* spp. Seropositivity in Goats in the State of Sergipe, Northeastern Brazil. Ciência Rural 47(7):1-7.

Rodríguez, H; Barreto, G; García, T; Vázquez, R. 2017a. Animales domésticos como reservorios de la Leptospirosis en Camagüey, papel de los cerdos. Revista de Producción Animal 29(3):12-15.

Rodríguez, H; Barreto, G; García, T; Vázquez, R. 2017b. Animales domésticos como reservorios de la Leptospirosis en Camagüey; papel de la especie equina (en línea). Revista electrónica de Veterinaria 18 (4):1-9. Consultado 7 jun. 2020. Disponible en https://bit.ly/3m48k0L

Rodríguez, H; Barreto, G; García, T; Vázquez, R. 2019. Comportamiento estacional de la leptospirosis en equinos durante un decenio en Camagüey (en línea). Revista de Producción Animal 31(2). Consultado 7 jun. 2020. Disponible en https://bit.ly/33dpqkx

Thayaparan, S; Robertson, ID; Fairuz, A; Suut. L; Abdullah, MT. 2013. Leptospirosis, an emerging zoonotic disease in Malaysia. Malaysian Journal of Pathology 35(2):123–132

Waleed, AO; Moustapha, A; Rachida, H; Zakaria, M. 2016. A review of laboratory diagnosis and treatment of leptospirosis. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 8(12):7-13.

White, AM; Zambrana-Torrelio, C; Allen, T; Rostal, MK; Wright, AK; Ball, EC; Daszak, P; Karesh, W. 2017. Hotspots of canine leptospirosis in the United States of America (en línea). The Veterinary Journal 222:29–35. Consultado 7 jun. 2020. Disponible en https://bit.ly/338Bvr9

Wilson-Welder, JH; Frank, AT; Hornsby, RL; Olsen, SC; Alt, DP. 2016. Interaction of Bovine Peripheral Blood Polymorphonuclear Cells and *Leptospira* Species; Innate Responses in the Natural Bovine Reservoir Host (en línea). Frontiers in

Microbiology 7:1110. Consultado 7 jun. 2020. Disponible en doi: 10.3389/fmicb.2016.01110

Yatbantoong, N; Chaiyarat, R. 2019. Factors Associated with Leptospirosis in Domestic Cattle in Salakphra Wildlife Sanctuary, Thailand (en linea). International Journal of Environmental Research and Public Health 16(6):1042. Consultado 7 jun. 2020. Disponible en doi: 10.3390/ijerph16061042.

Comparación de tres métodos para la determinación de coliformes totales en canales de pollos provenientes de una planta beneficiadora en el estado Carabobo, Venezuela

Wilmarys Dos Ramos[1], Marily Freitas[1], María Gonçalves[1], Teresita Luigi S.[1,2], Noreldy Molina[3], Legna Rojas[4,5]

[1]Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Bioanálisis. Carabobo, Venezuela. [2]Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Ciencias Biomédicas, Centro de Investigaciones Microbiológicas Aplicadas (CIMA). Carabobo, Venezuela. [3]Universidad de Carabobo, Facultad de Odontología, Departamento de Microbiología. Carabobo, Venezuela. [4]Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas. Carabobo, Venezuela. [5]Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias y Tecnología, Centro de Biotecnología Aplicada. Carabobo, Venezuela. Correo electrónico: teresitaluigi@hotmail.com

RESUMEN

Las bacterias coliformes son microorganismos indicadores de contaminación por enterobacterias, por tanto, revelan la presencia de patógenos intestinales cuando se utilizan en la evaluación de las condiciones sanitarias del procesamiento industrial y almacenamiento del pollo. Este estudio tuvo como objetivo comparar la eficiencia de tres métodos analíticos: número más probable (NMP), vertido en placa (VP) y Petrifilm™, para la detección de la contaminación microbiológica por coliformes totales en canales de pollos. Se recolectaron 80 canales de pollos grado "A", siguiendo la metodología recomendada en las Normas COVENIN 1104, 1086, 2343 y 3276. Se observaron diferencias significativas (P < 0,05) entre los métodos NMP y VP (P = 0,0126), pero no entre los métodos NMP y Petrifilm™ (P = 0,6547). El método Petrifilm™ resultó una técnica rápida, confiable y menos costosa, lo que constituye una alternativa para la sustitución de la metodología NMP en la determinación de coliformes totales en muestras de pollo. Independientemente del método utilizado, el porcentaje de aceptabilidad para coliformes totales fue bajo (entre 28,75 y 42,5 %), evidenciando una deficiente calidad sanitaria de las canales de pollo. La disponibilidad de metodologías analíticas rápidas y confiables facilitaría la liberación oportuna de los productos alimenticios con criterios microbiológicos que garanticen la inocuidad de los alimentos.

Palabras clave: aceptabilidad, contaminación de los alimentos, higiene de los alimentos, pollo de engorde, inocuidad alimentaria, análisis de los alimentos.

Comparison of three methods for the determination of total coliforms in chicken carcasses from a slaughterhouse in Carabobo state, Venezuela

ABSTRACT

Coliforms bacteria are indicator microorganisms of contamination by *Enterobacteriaceae*; therefore, they reveal the presence of intestinal pathogens when they are used in the evaluation of the sanitary conditions of industrial processing and storage of chicken. This study aimed to compare the efficiency of three analytical methods: most probable number (MPN), plaque pour (PP) and Petrifilm™, for the detection of microbiological contamination by total coliforms on chicken carcasses. A total of 80 grade "A" chicken carcasses were collected, following the methodology recommended in the COVENIN standards 1104, 1086, 2343 and 3276. Significant differences were observed (P < 0.05) between MPN and PP methods (P = 0.0126), but not between MPN and Petrifilm™ methods (P = 0.6547). The Petrifilm™ method was a fast, reliable and less expensive technique, which constitutes an alternative to replace the MPN methodology for determination of total coliforms in chicken carcasses. Regardless of the method used, the percentage of acceptability for total coliforms was low (between 28.75 and 42.5 %), evidencing a poor sanitary quality of the chicken carcasses. The availability of fast and reliable analytical methodologies would facilitate the timely release of food products with microbiological criteria that guarantee food safety.

Key words: acceptability, food contamination, food hygiene, broiler chickens, food safety, food analysis.

Recibido: 11/02/2019 - Aprobado: 20/09/2020

INTRODUCCIÓN

La carne de pollo es un alimento ampliamente consumido por la población y representa aproximadamente dos tercios de la producción total de carne alrededor del mundo en la actualidad (Albarri *et al.* 2017). Se le considera un vehículo importante de enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) y ocupa entre el primero y el segundo lugar en alimentos asociados con ETA (Sams 2001). Lo anterior puede ser facilitado por sus particularidades fisicoquímicas tales como pH cercano a la neutralidad, actividad de agua alta, y alto contenido de proteínas y grasas (Mercado *et al.* 2012). Estas características promueven la susceptibilidad de este producto a la contaminación con diversos microorganismos, tales como las bacterias coliformes, que pueden contaminar la carne de pollo durante los procesos de beneficio.

Se han reportado múltiples y variadas fuentes de posible contaminación de la carne de pollo, tales como el tracto intestinal o la materia fecal presente en las patas o plumas del animal (Albarri *et al.* 2017). De igual forma, Marques *et al.* (2017) reportan que, en condiciones de producción, comercialización y manipulación inadecuadas, patógenos como *Salmonella* spp. y *Escherichia coli*, surgen como responsables de numerosos brotes de ETA, tanto en países desarrollados como en países con recursos limitados.

Lo anterior indica los riesgos del consumo de carne de pollo en caso de contaminación del producto, con las subsiguientes implicaciones para la salud pública. Esto ha provocado que la industria alimentaria se esfuerce en garantizar el control de la calidad sanitaria durante el procesamiento industrial, a fin de minimizar los riesgos para la salud del consumidor, contribuir a la comercialización de productos inocuos (Kim *et al*. 2017), y evitar pérdidas económicas por la contaminación microbiológica en las plantas beneficiadoras (Degli *et al*. 2018).

Para la evaluación de calidad sanitaria durante el procesamiento de las aves de corral, se ha reportado el uso de indicadores bacterianos como los recuentos de coliformes totales y los recuentos de bacterias aeróbicas. Los primeros son utilizados como un indicador de higiene en el monitoreo de los procedimientos de sacrificio y en la evaluación de la eficiencia del escaldado, flameado, evisceración y enfriamiento. Mientras que los recuentos bacterianos constituyen un indicador de las condiciones higiénicas generales (Saad *et al.* 2015, Szczech *et al.* 2018).

Estudios recientes evidencian que un alto número de coliformes pueden indicar la presencia de patógenos intestinales como *E. coli* (Pacheco *et al.* 2017). De igual forma, Li *et al.* (2019) reportaron que los mismos pueden considerarse buenos indicadores de patógenos entéricos como *Salmonella* y *E. coli* en productos avícolas. Es oportuno destacar que aun cuando la mayoría de los aislados de *E. coli* no son patógenos, aproximadamente entre 10 a 15 % de los coliformes intestinales son oportunistas patógenas, por lo que son responsables de una variedad de lesiones en huéspedes inmunocomprometidos. Además, pueden estar asociados con enfermedades graves y en algunas ocasiones, con infecciones letales como meningitis, endocarditis, infección del tracto urinario, septicemia y diarrea epidémica de adultos y niños (Uddin *et al.* 2019).

Aunque el consumo de la carne de pollo se realiza posterior a la cocción, es oportuno resaltar que altas temperaturas de cocción no garantiza la inocuidad del producto. Se ha reportado que algunas bacterias o sus metabolitos pueden ser resistentes al proceso de cocción, como las bacterias termo-tolerantes pertenecientes al género *Campylobacter* (García *et al*. 2017) o enterotoxinas producidas por *Staphylococcus aureus*, las cuales han sido relacionadas con ETA causadas por aves de corral (Firildak *et al.* 2015).

En Venezuela, son escasos los estudios de evaluación de parámetros microbiológicos en carnes de aves como el pollo, por lo que no se cuentan con datos suficientes que permitan inferir la calidad sanitaria de los procesos asociados a la producción de pollos en el país.

Para la industria avícola nacional e internacional existen dos aspectos de particular importancia, el primero es la determinación de la calidad sanitaria de la canal a lo largo del proceso de producción; el segundo es contar con metodologías confiables y rápidas que permitan la liberación oportuna de sus productos bajo criterios microbiológicos que garanticen la inocuidad del alimento, y que sea apto para el consumo humano (Dušková *et al*. 2016). En relación al segundo aspecto, es necesario contar con las técnicas más adecuadas y rentables para la evaluación microbiológica de los pollos de consumo.

Considerando lo antes expuesto, el objetivo de este estudio fue comparar la eficiencia de tres métodos analíticos (NMP, VP, Petrifilm™) para la detección de la contaminación microbiológica por coliformes totales en pollos provenientes de una planta beneficiadora en el estado Carabobo, Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de muestreo

La muestra fue obtenida en una planta de beneficio de pollos ubicada en el estado Carabobo, Venezuela. Esta empresa realiza evaluaciones periódicas del proceso de beneficio, para el control higiénico sanitario del mismo.

Muestra

Se realizó un muestreo exploratorio al azar durante 27 días continuos, de acuerdo a las recomendaciones establecidas en la Norma Venezolana COVENIN 1126 (COVENIN 1989). En cada día de muestreo se colectaron 3 pollos beneficiados tipo grado "A", con un promedio de peso de 1,8 kg, refrigerados y empacados en bolsas individuales. Los mismos fueron transportados al laboratorio de microbiología de la empresa, en recipientes isotérmicos con hielo para su procesamiento inmediato.

En concordancia con la Norma Venezolana COVENIN 2343 (COVENIN 1986), la unidad de análisis de cada pollo beneficiado consistió en una muestra de tejido muscular libre de grasa de las zonas del muslo (músculo iliotibial craneal derecho e izquierdo) y pechuga (músculo pectoral torácico derecho e izquierdo). Un total de 25 g por pollo se utilizaron en la primera dilución, homogeneizados en 225 mL de agua peptonada al 0,1 % (dilución 1/10).

Determinación de coliformes totales

A partir de la primera dilución, cada una de las muestras fue inoculada en una serie de tubos con diluciones en agua peptonada al 0,1 %. Los ensayos se realizaron por triplicado mediante los siguientes métodos:

- **Método del número más probable (NMP)**

Se realizó de acuerdo a la norma venezolana COVENIN 1104 (COVENIN 1996). Para esto se inoculó 1 mL de cada dilución en 3 tubos de ensayo de 9 mL con campana de Durham, contentivo de caldo Mac Conkey (BBL™ Becton Dickinson and Company. Sparks, MD USA). Se incubaron a 37°C por 24 h. Luego de este periodo, se agitó suavemente cada tubo y se observó la aparición de gas y turbidez, ambas apreciaciones indicaron presencia de coliformes totales. Se cuantificó el resultado utilizando la tabla de probabilidad para diluciones en tubo (NMP para tres tubos), de acuerdo a ISO (1991).

- **Vertido en placa (VP)**

Se inoculó 1 mL de cada dilución en 2 placas Petri mediante la siembra en profundidad en Agar Bilis Rojo Violeta (HIMEDIA®, Himedia laboratories, Mumbai, India), con posterior incubación a 37 °C por 24 h, de acuerdo a la metodología estándar sugerida por la norma COVENIN 1086 (COVENIN 1984). Las colonias se enumeraron al término del tiempo de incubación, en cuenta colonias tipo Quebec, considerando para el recuento únicamente las placas que tenían entre 1 y 150 colonias. El resultado expresado corresponde al número de unidades formadoras de colonias por mililitro de muestra (UFC.mL^{-1}).

- **Petrifilm™**

El procedimiento consistió en colocar 1 mL de las diluciones en el centro de la película cuadricular inferior, para luego ubicar sobre la placa, el difusor. Se presionó suavemente para distribuir el inóculo sobre el área y se esperó 1 min para hidratar el gel. Las placas fueron incubadas durante 48 h a 35 °C (de acuerdo con la metodología estándar sugerida por la norma COVENIN 3276 (COVENIN 1997). Las colonias se enumeraron al término del tiempo de incubación, en cuenta colonias tipo Quebec, considerando para el recuento únicamente las placas que tenían entre 15 y 150 colonias. El resultado expresado corresponde al número de bacterias o unidades formadoras de colonias por mililitro de muestra (UFC.mL^{-1}).

Definición del límite de aceptabilidad

En Venezuela no se encuentra definido el límite de aceptabilidad para coliformes totales en pollo, por tanto se utilizaron como límites microbiológicos, los valores dispuestos en las normas vigentes en otros países latinoamericanos tales como Argentina, Nicaragua y Perú (Molina *et al*. 2010), considerado

como rechazables aquellos recuentos mayores a 1000 UFC.mL^{-1} o NMP.mL^{-1} (mayor a 3 $\log_{10}$UFC.mL^{-1}) y aceptables, los recuentos menores a 1000 UFC.mL^{-1} o NMP.mL^{-1}(menor a 3 $\log_{10}$UFC.mL^{-1}).

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante estadística descriptiva. Para comprobar las diferencias entre las metodologías evaluadas se utilizó la prueba de McNemar (Campbell *et al*. 2007). A los fines de evaluar la sensibilidad y especificidad de los métodos Petrifilm™ y VP en relación con el método NMP, se utilizó una curva COR (Curva Operante del Receptor). Para todas las determinaciones se utilizó el programa estadístico SPSS versión 11.0 (Visauta 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuantificación de coliformes totales

La cuantificación de coliformes totales en las canales de pollo analizadas se muestra en el Cuadro 1. De manera específica, el método NMP detectó valores por encima de 3,04 unidades logarítmicas ($\log_{10}$NMP. mL^{-1}), en 63,75 % de las muestras. Para los métodos Petrifilm™ y VP, una mayor proporción de muestras presentaron recuentos entre las 2,01 y 4,01 unidades logarítmicas, con frecuencias de 75,5 y 73,75 %, respectivamente.

Las bacterias coliformes son indicadores de contaminación por enterobacterias, esto significa que su hallazgo revela la presencia de patógenos intestinales como *E. coli* y *Salmonella* spp. Con base en lo anterior, la determinación de coliformes totales constituye un parámetro importante en la evaluación de las condiciones sanitarias del procesamiento y almacenamiento del pollo (Pacheco *et al*. 2017).

Los resultados del presente estudio muestran que independientemente del método utilizado, los recuentos de coliformes se concentraron en un rango similar (entre 2 y 4 unidades logarítmicas). Lo anterior coincide con los estudios realizados por Molina *et al.* (2010), quienes describieron rangos similares o superiores para muestras de pollo crudo aliñado y sin aliñar, expendidos en diferentes supermercados de Mérida (Venezuela). Así mismo, Ibrahim *et al.* (2015) señalaron recuentos de coliformes muy parecidos a los reportados en el presente estudio (3,1 unidades logarítmicas), en muestras de canales de pollo (sacrificadas, desplumadas y evisceradas) provenientes de tiendas minoristas de varias ciudades de Egipto.

Cuadro 1. Coliformes totales mediante tres métodos a muestras de pollo grado "A" (n = 80) en una planta beneficiadora en el estado Carabobo, Venezuela.

Método	Rango ($\log_{10}$NMP. mL^{-1})	Rango ($\log_{10}$UFC. mL^{-1})	Frecuencia (%)
NMP	1,00 - 2,00	-	2,75
	2,01 - 3,00	-	26,25
	3,01 - 3,04	-	7,25
	mayor a 3,04	-	63,75
Petrifilm™	-	2,01 - 3,00	31,75
	-	3,01 - 4,01	43,75
	-	4,01 - 5,16	14,75
	-	mayor a 5,17	9,75
VP	-	0,00 - 1,00	2,25
	-	1,00 - 2,00	8,75
	-	2,01 - 3,00	32,50
	-	3,01 - 4,01	41,25
	-	4,02 - 5,00	12,00
	-	5,01 - 5,17	2,25
		mayor a 5,69	1,00

NMP: Número más probable, VP: Vertido en placa. NMP.mL^{-1}: Número más probable de microorganismos por mililitro, UFC.mL^{-1}: Unidades formadoras de colonias por mililitro.

Investigaciones realizadas por Acevedo *et al.* (2015) utilizando la técnica de NMP, reportaron valores por encima de las 7 unidades logarítmicas en muestras de pechuga de pollo provenientes de varios mercados de Colombia. Otros trabajos realizados en la India y Kenia, señalan recuentos ubicados entre 4 y 7 unidades logarítmicas para muestras de carne de

pollo recolectadas de diferentes avícolas, utilizando las técnicas de vertido en placa y Petrifilm™ (Odwar *et al.* 2014, Kumar y Verma 2016).

Comparación de los métodos analíticos

Se observaron diferencias significativas (P < 0,05) entre los métodos NMP y VP (P = 0,0126), mientras que entre los métodos NMP y Petrifilm™, no existieron diferencias (P = 0,6547). Estos resultados muestran que el método Petrifilm™ es tan útil como el NMP para su empleo de rutina en la industria de alimentos, debido a la inexistencia de diferencia significativa entre ambos métodos. En un estudio realizado por Samarajeewa *et al.* (2010), no se detectaron diferencias significativas entre el método de Petrifilm™ y el método NMP para la recuperación de *E. coli* a partir de muestras ambientales de suelo. Ambas pruebas se basan en la actividad de la enzima β-D-glucoronidasa, presente en *E. coli* en un 94 %. Los resultados del presente estudio coinciden con los reportados por Rahman *et al*. (2012), quienes compararon el método de NMP y el Petrifilm™ para la detección de *E. coli* en muestras de aves de corral. Estos investigadores obtuvieron resultados similares en términos de precisión y correlación, siendo el método de Petrifilm™ uno de los métodos más prácticos.

Sensibilidad y especificidad

La relación sensibilidad-especificidad del método Petrifilm™ es mayor a la de VP (Figura 1), lo que confirma la mayor confiabilidad de Petrifilm™ como método alternativo para la determinación de coliformes totales en las muestras de pollo, sobre el NMP tradicional. En relación a lo anterior, estudios diferentes han resaltado la reproducibilidad de los resultados y los altos valores de sensibilidad y especificidad de las placas Petrifilm™ en comparación con los métodos tradicionales (Casillas *et al*. 2012, Hervert *et al*. 2017). Por otra parte, en el trabajo de Drebes *et al*. (2012) se observó la detección directamente proporcional del microorganismo de interés, en un rango de concentración de 1 a 256 UFC.mL^{-1}. Con base en estos resultados, los investigadores resaltaron la sensibilidad del método Petrifilm™ para la detección de niveles bajos de microorganismos en canales de aves de corral y la factibilidad de su uso como prueba de rutina en los laboratorios de la industria alimentaria, o incluso para laboratorios de salud pública.

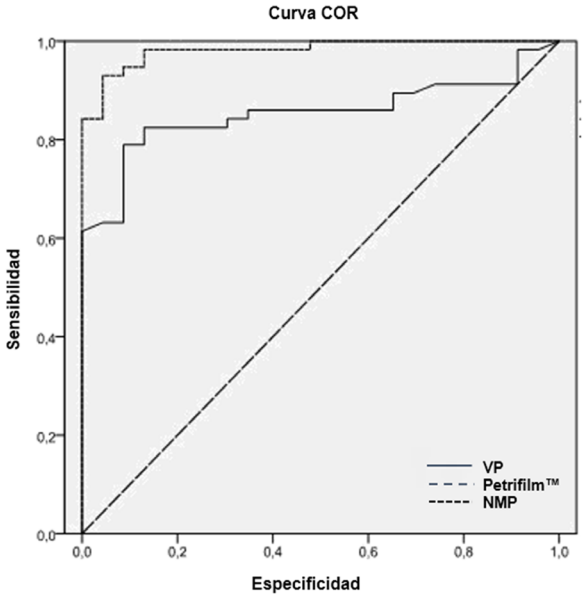


Figura 1. Análisis de la sensibilidad y especificidad de Petrifilm™ y VP en comparación con el método NMP, en el procesamiento de muestras de pollo (n = 80) provenientes de una planta beneficiadora en el estado Carabobo, Venezuela.

Grado de aceptabilidad

Los resultados obtenidos en relación a la aceptabilidad se muestran en el Cuadro 2. En la mayoría de las muestras, se detectaron niveles de coliformes totales superiores a los límites microbiológicos establecidos en las normativas de Argentina, Nicaragua y Perú, que se corresponden a los rangos: 2,0 - 2,69; 2,70 – 3,0 y 0 - 2,0 Log_{10}UFC.g^{-1}, respectivamente. (Molina *et al*. 2010)

Aunque en Venezuela no se encuentra definido el límite de aceptabilidad para coliformes totales, los valores obtenidos independientemente del método de detección, indicaron que la mayoría de los productos se consideraron rechazados al observarse una proporción importante de muestras positivas (entre el 58 y 71 %) por encima del límite permitido. Estos resultados coinciden con el trabajo realizado por Pacheco *et al*. (2017), quienes reportaron recuentos en las etapas minorista y consumidor, en el 72,2 y 94,4 % de las muestras analizadas, respectivamente. Estos valores excedieron los límites máximos de coliformes totales.

Cuadro 2. Grado de Aceptabilidad de muestras de pollos grado "A" (n = 80) según recuento de coliformes totales mediante tres métodos evaluados. Carabobo, Venezuela.

Método	Rechazado (n)	Aceptado (n)	Aceptabilidad (%)
NMP	57	23	28,75
Petrifilm™	56	24	30,00
VP	46	34	42,5

NMP: Número más probable, VP: Vertido en placa.

De igual manera, Odwar *et al*. (2014), reportaron que un 76 % de las muestras estuvieron por debajo del rango aceptable para coliformes totales. Esto indica, al igual que en la presente investigación, fallas higiénicas durante el procesamiento y almacenamiento del pollo beneficiado. Los recuentos de coliformes totales por encima del límite permitido de aceptabilidad, indican la necesidad de establecer medidas correctivas desde el punto de vista higiénico-sanitario durante todas las etapas del procesamiento industrial, desde el sacrificio hasta la comercialización (Pacheco *et al.* 2017). Se ha demostrado la relación entre la deficiente calidad sanitaria y la presencia de patógenos entéricos, los cuales constituyen un riesgo para la salud de los consumidores (Ibrahim *et al*. 2015).

Finalmente, para garantizar la inocuidad de los productos alimenticios se requiere de métodos más eficientes y confiables a los fines de realizar una evaluación eficaz de estos productos. La calidad sanitaria del alimento tiene incidencias sobre varios aspectos, en primer lugar asegura la calidad y la inocuidad de los productos y procesos, disminuye las potenciales pérdidas asociadas al deterioro y decomiso de productos, además promueve la satisfacción del cliente.

En el presente trabajo se comparó la eficiencia de tres metodologías analíticas para la determinación de coliformes totales. Los resultados indicaron que la metodología Petrifilm™ fue eficiente, según las variables evaluadas. Como características favorables adicionales se menciona el ahorro de espacio en incubadoras, lo que facilita el procesamiento de una mayor cantidad de muestras. Así mismo, debido a las características de su diseño (cuadrícula en el fondo de la película e indicadores de color para las colonias), no se requiere de la experiencia del observador para discriminar la morfología típica de coliformes, a diferencia del método VP. Por otra parte, las colonias típicas se pueden contar manualmente o automáticamente (Jasson *et al.* 2010).

De igual forma, Petrifilm™ permite mayor rapidez en la obtención de resultados comparado al método NMP, que requiere al menos 5 días. Esto indica que NMP es el menos adecuado para el análisis diario del producto (Teramura *et al.* 2017). Este último aspecto es de particular importancia para la industria avícola, que requiere la emisión rápida de resultados para la liberación oportuna de los productos alimenticios, con criterios microbiológicos que garanticen la inocuidad de los mismos.

En la actualidad, la metodología Petrifilm™ podría considerarse costosa, comparada con NMP y VP. No obstante, estas metodologías requieren la adquisición de placas y medios de cultivo que puede resultar en un mayor gasto para las empresas. Con base a los datos presentados en este estudio, se demuestra la factibilidad del uso de Petrifilm™ para la determinación de coliformes totales en canales de pollo beneficiado grado "A", debido a su rapidez, confiabilidad, practicidad y rentabilidad.

CONCLUSIONES

El método Petrifilm™ permitió la determinación de coliformes totales en muestras de pollo beneficiado grado "A", de una manera rápida, rentable y confiable.

Los resultados del presente estudio permiten inferir que el método Petrifilm™ constituye una técnica alternativa al NMP en la determinación de coliformes totales en muestras de pollo.

Los resultados obtenidos en la determinación de coliformes totales mostraron un porcentaje de aceptabilidad bajo (entre 28 y 42 %), independientemente del método utilizado. Lo anterior evidencia una deficiente calidad sanitaria del pollo beneficiado que podría coincidir con la presencia de patógenos entéricos, situación que representa un riesgo de salud para los consumidores. Se recomienda intensificar los controles higiénico-sanitarios, así como la adopción de buenas prácticas de manufactura en toda la cadena alimentaria.

LITERATURA CITADA

Acevedo, D; Montero, P; Jaimes, J. 2015. Determination of Antibiotics and Microbiological Quality of Chicken Meat Commercialized in Cartagena (Colombia). Información Tecnológica 26(1):71-76.

Albarri, O; Var, I; Meral, M; Bedir, B; Heshmati, B; Köksal, F. 2017. Prevalence of *Escherichia coli* isolated from meat, chicken and vegetable samples in Turkey. Journal of Biotechnology Science Research 4(3):214-222.

Campbell, M; Machin, D; Walters, S. 2007. Medical Statistics: a commonsense approach. 4 ed. Chichester, Inglaterra, John Wiley & Sons. 331 p.

Casillas, R; Heredia, N; Benesh, D; García, S. 2012. Efficacy of 3M™ Petrifilm™ aerobic count plates for enumerating *Bacillus sporothermodurans* and Geobacillus stearothermophilus in UHT milk. International Dairy Journal 25(2):147-149.

COVENIN (Comisión venezolana de normas industriales). 1984. Alimentos. Métodos para recuento de bacterias coliformes en placas de Petri. Norma 1086. 1ra revisión. Caracas, Venezuela. FONDONORMA. 11 dic. 9 p.

COVENIN (Comisión venezolana de normas industriales). 1986. Pollo beneficiado. Norma 2343. Caracas, Venezuela. FONDONORMA. 11 feb. 10 p.

COVENIN (Comisión venezolana de normas industriales). 1989. Alimento. Identificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico. Norma 1126. 1ra revisión. Caracas, Venezuela. FONDONORMA. 7 jun. 11 p.

COVENIN (Comisión venezolana de normas industriales). 1996. Determinación del Número Más Probable de coliformes, coliformes fecales y de *Escherichia coli*. Norma 1104. 2da revisión. Caracas, Venezuela. FONDONORMA. 14 ago. 15 p.

COVENIN (Comisión venezolana de normas industriales). 1997. Alimentos. Recuento de coliformes y de *Escherichia coli* método en placa con películas secas rehidratadas (Petrifilm). Norma 3276. Caracas, Venezuela. FONDONORMA. 5 mar. 6 p.

Degli, M; Toselli, M; Sabia, C; Messi, P; De Niederhäusern, S; Bondi, M; Iseppi, R. 2018. Effectiveness of polymeric coated films containing bacteriocin-producer living bacteria for *Listeria monocytogenes* control under simulated cold chain break (en línea). Food Microbiology 76:173-179. Consultado 10 may. 2020. Disponible en https://bit.ly/2Hw3j1w

Drebes, T; Majolo, C; Fröder, H. 2012. Evaluation of the use of Petrifilm™ EB count plates for the enumeration of *Enterobacteriaceae* in poultry samples. Food Science and Technology 32(3):588-593.

Dušková, M; Kameník, J; Lačanin, I; Šedo, O; Zdráhal, Z. 2016. Lactic acid bacteria in cooked hams - Sources of contamination and chances of survival in the product (en línea). Food Control 61:1-5. Consultado 10 may. 2020. Disponible en https://bit.ly/3jr9wZJ

Firildak, G; Asan, A; Goren, E. 2015. Chicken carcasses bacterial concentration at poultry slaughtering facilities. Asian Journal of Biological Sciences 8(1):16-29.

García, L; Melero, B; Jaime, I; Hänninen, M; Rossi, M; Rovira, J. 2017. Campylobacter jejuni survival in a poultry processing plant environment (en línea). Food microbiology 65:185-192. Consultado 10 may. 2020. Disponible en https://bit.ly/34poWJH

Hervert, C; Martin, N; Boor, K.; Wiedmann, M. 2017. Survival and detection of coliforms, *Enterobacteriaceae*, and gram-negative bacteria in Greek yogurt. Journal of Dairy Science 100(2):950-960.

ISO (International Organization for Standardization). 1991. Microbiology general guidance for the enumeration of coliforms-most probable number technique. Norma 4831. Geneva, Switzerland. ISO. 30 mar. 11 p.

Ibrahim, H; Amin, R; El-Shater, M; Hafez, S. 2015. Bacteriological evaluation of freshly slaughtered chicken carcasses (en línea). Benha Veterinary Medical Journal 28(2):74-82. Consultado 20 may. 2020. Disponible en https://bit.ly/3dXWEcv

Jasson, V; Jacxsens, L; Luning, P; Rajkovic, A; Uyttendaele, M. 2010. Alternative microbial methods: An overview and selection criteria (en línea). Food microbiology 27(6):710-730. Consultado 10 may. 2020. Disponible en https://bit.ly/2TldZTj

Kim, S; Park, S; Lee, S; Owens, C; Ricke, S. 2017. Assessment of chicken carcass microbiome responses during processing in the presence of commercial antimicrobials using a next generation sequencing approach (en línea). Scientific Reports 7:43354. Consultado 10 may. 2020. Disponible en https://go.nature.com/3e3Dgeg

Kumar, A.; Verma, A. 2016. Microbial status of chicken meat sold in Western Utter Pradesh. Journal of Veterinary Public Health 9(2):111-114.

Li, Y; Pei, X; Zhang, X; Wu, L; Liu, Y; Zhou, H; Yang, D. 2019. A surveillance of microbiological contamination on raw poultry meat at retail markets in China. Food Control 104:99-104.

Marques, J; Funck, G; Dannenberg, G., Cruxen, E; El Halal, S; Dias, A; Fiorentini, A; da Silva, W. 2017. Bacteriocin-like substances of *Lactobacillus curvatus* P99: characterization and application in biodegradable films for control of *Listeria monocytogenes* in cheese (en línea). Food Microbiology 63:159-163. Consultado 5 may. 2020. Disponible en https://bit.ly/3jupRg8

Mercado, M; Ávila, J; Rey, M; Montoya, M; Carrascal, A; Correa, D. 2012. Outbreaks of *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* associated with poultry consumption. Systematic review. Biomédica 32(3):375-385.

Molina, N; Millán, B; Araque, M. 2010. Indicadores de calidad sanitaria y fenotipificación de *Salmonella* enterica aislada de pollo crudo comercializado en el área urbana de Mérida, Venezuela. Infectio 14(3):174-185.

Odwar, J; Kariuki, J; Kikuvi, G. 2014. A cross-sectional study on the microbiological quality and safety of raw chicken meats sold in Nairobi, Kenya. BMC Research Notes 7(627):1-8.

Pacheco, D; De Bairros, J; Passos, L; Buchweitz, M; Rodrigues, K; Helbig, E; Gandra, E. 2017. Total and Thermo-Tolerant Coliforms, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., and *Listeria monocytogenes* in Broilers Chicken Meat Processing Chain in Southern Brazil. Journal of Food and Nutrition Research 5(11):867-873.

Rahman, R; Sani, N; Jemain, A. 2012. Evaluation of *Escherichia coli* Enumeration Methods in Poultry Dishes. Sains Malaysiana 41(3):325-331.

Saad, S; Edris, A; Hassan, M; Edris, S. 2015. Bacteriological evaluation of half cooked chicken meat products. Benha Veterinary Medical Journal 28(2):135-140.

Samarajeewa, A; Glasauer, S; Dunfield, K. 2010. Evaluation of Petrifilm™ EC method for enumeration of *E. coli* from soil. Letters in Applied Microbiology 50(5):457-461.

Sams, AR. 2001 Poultry meat. *In* Poultry Meat Processing and Quality. New York, EEUU. Taylor & Francis, CRC Press. 395 p

Szczech, M; Kowalska, B; Smolińska, U; Maciorowski, R; Oskiera, M; Michalska, A. 2018. Microbial quality of organic and conventional vegetables from Polish farms. International Journal of Food Microbiology 286:155-161.

Teramura, H; Sota, K; Iwasaki, M; Ogihara, H. 2017. Comparison of the quantitative dry culture methods with both conventional media and most probable number method for the enumeration of coliforms and *Escherichia coli*/coliforms in food. Letters in Applied Microbiology 65(1):57-65.

Uddin, J; Hossain, K; Hossain, S; Saha, K; Jubyda, F; Haque, R; Billah, B; Talukder, A; Parvez, A; Dey, S. 2019. Bacteriological assessments of foodborne pathogens in poultry meat at different super shops in Dhaka, Bangladesh. Italian Journal Food Safety 8(1):15-20.

Visauta, VB. 2002. Análisis Estadístico con SPSS 11.0 para Windows. Estadística Básica. Madrid, España. McGraw-Hill. v. 1, 331 p.

Prevalencia de Anemia Infecciosa Equina en la población de equinos de tracción en Bogotá, Colombia

Luis Gabriel Duque Muñoz[1], José I. Muñoz P.[2], Ingrid J. Mondragón R.[2]

[1]AGROSAVIA - Corporación Colombiana de Investigación Agrícola. Colombia. [2]Ejercicio privado. Colombia. Correo electrónico: lgduque@agrosavia.co

RESUMEN

Este trabajo corresponde a un estudio descriptivo de prevalencia de Anemia Infecciosa Equina (AIE), que evaluó una población de 469 equinos en Bogotá DC, entre febrero y mayo del 2013. Para determinar el estado sanitario de la población de estudio respecto a la AIE, se tomaron muestras de sangre y se recopilaron datos para la historia clínica de cada equino; fecha de ingreso, sexo, edad y signos clínicos, entre otros. Las muestras colectadas fueron remitidas a la clínica veterinaria de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (UDCA), el diagnóstico de AIE se realizó mediante una prueba de inmunodifusión en agar gel (prueba de Coggins), de acuerdo con el protocolo establecido por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). Para procesar los datos, se empleó el programa Epi Info v.3.5.4, dentro de los resultados se destaca la prevalencia total de AIE de 1,2 %. La presencia de Anemia Infecciosa Equina en la población de Bogotá DC, representa un aspecto de importancia en sanidad animal ya que los animales seropositivos representan un riesgo para el control de la enfermedad en el país.

Palabras Claves: sanidad animal, diagnóstico, epidemiología, prueba de Coggins.

Prevalence of Equine Infectious Anemia in the population of traction equines in Bogotá, Colombia

ABSTRACT

This work corresponds to a descriptive study of the prevalence of Equine Infectious Anemia (EIA), which evaluated a population of 469 equines in Bogotá DC, between February and May 2013. To determine the health status of the study population with respect to EIA Blood samples were taken and data was collected for the clinical history of each equine; date of admission, sex, age and clinical signs, among others. The collected samples were sent to the veterinary clinic of the Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (UDCA), the diagnosis of EIA was made by means of an immunodiffusion test on agar gel (Coggins test), according to the protocol established by the Institute Colombiano Agropecuario (ICA). To process the data, the Epi Info v.3.5.4 program was used, within the results the total prevalence of EIA of 1.2% stands out. The presence of Equine Infectious Anemia in the population of Bogotá DC represents an important aspect in animal health since seropositive animals represent a risk for the control of the disease in the country.

Key words: animal health, diagnosis, epidemiology, Coggins test.

Recibido: 11/03/2020 - Aprobado: 03/10/2020

INTRODUCCIÓN

Se estima que la cantidad de equinos de trabajo en países desarrollados se ubica alrededor de los 15,5 millones, mientras que en los países en vía de desarrollo se ubica alrededor de los 100 millones de équidos. Estos ejemplares realizan tareas de transporte y trabajo de carga de diferentes productos y/o materiales en las labores de campo, cumpliendo con esto un papel importante para la economía rural (Basaznew *et al*. 2012, Crane *et al.* 2011, Andrade *et al.* 2018). De acuerdo con las proyecciones, la población mundial de equinos se acerca a 124 millones de ejemplares, de estos, el 34 % (42 millones) habita en el continente americano (FAO 2018). La gran mayoría de estos animales contribuyen a la agricultura familiar (Upjhon *et al*. 2014); sin embargo, no están exentos de una pobre condición corporal, problemas respiratorios, afecciones dentales y podales (Burn *et al*. 2010), además de patologías infecciosas.

La anemia infecciosa equina (AIE) es una enfermedad infecciosa crónica exclusiva de los équidos, producida por un lentivirus de la familia Retroviridae, este virus se transmite en forma mecánica por insectos picadores hematófagos, agujas contaminadas, escofinas dentales, tubos estomacales, al igual que cualquier otro instrumento que pueda causar abrasión. Los principales reservorios de la enfermedad son los portadores inaparentes del virus, sobre todo los equinos que no son identificados mediante un control serológico periódico (Franco *et al*. 2011). Este control es importante debido a que un animal infectado será portador durante toda su vida, con el virus presente en todos los fluidos y secreciones del organismo (González 2011). Los équidos infectados se convierten en portadores asintomáticos del virus, que permanece latente hasta que se producen otras enfermedades simultáneas, estrés severo o trabajo intenso, dando lugar a episodios transitorios de fiebre, anemia, pérdida de peso y depresión. La viremia alcanza su punto máximo cuando los caballos tienen pirexia y suele ser baja cuando los caballos parecen sanos. Los tábanos (*Tabanus* spp.), las moscas de los ciervos (*Chrysomyia* spp.), las moscas de los establos (*Stomoxys* spp.) y los mosquitos transmiten el virus, pero debido a sus grandes piezas bucales, los tábanos son los vectores naturales más eficaces en la transmisión de la AIE (Cullinane *et al*. 2006).

El primer reporte de AIE fue realizado en Francia en 1843 relacionándose inicialmente con malas condiciones higiénicas al igual que deficiencias nutricionales, sin embargo, hacia 1859 se descubre su naturaleza contagiosa (Morales *et al*. 2015). En Colombia, la AIE fue reportada por primera vez en 1948, en el departamento de la Guajira y en 1965, el ICA inició estudios para el desarrollo de herramientas para el diagnóstico. Para el año 2016, el boletín epidemiológico del ICA reportó a nivel nacional 1414 predios con positividad a esta enfermedad (ICA 2019). De acuerdo con Strauch *et al*. (2018), en Colombia existen pocos estudios regionales acerca de la prevalencia de AIE y en la zona urbana de Bogotá hay un desconocimiento total de su prevalencia en los caballos carretilleros. En diciembre del 2013, la Alcaldía Mayor de Bogotá emitió el decreto 595 (Alcaldía Mayor de Bogotá 2013), que prohíbe definitivamente la circulación de vehículos de tracción animal en el Distrito Capital. Sin embargo, quedaron excluidos del alcance del decreto, los vehículos de tracción animal que se utilizan para fines turísticos, conforme a lo dispuesto en el parágrafo 1 del artículo 98 de la Ley 769 (Congreso de la República 2002).

En la actualidad no se cuenta con un registro ni seguimiento de la enfermedad en equinos de tracción de Bogotá DC, por esta razón, es necesario establecer la prevalencia de la AIE y conocer la forma en la cual se presenta en un entorno netamente urbano que permitan generar acciones para el monitoreo, prevención y control de la diseminación de esta enfermedad.

Con base en lo anterior, el objetivo de este trabajo fue estimar la prevalencia de la Anemia Infecciosa Equina en los equinos de trabajo en la ciudad de Bogotá.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población estudiada

La muestra analizada para este trabajo estuvo conformada por 469 equinos con diferentes edades y representantes de ambos sexos, que fueron reportados a clínica de medicina veterinaria de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (UDCA) en el periodo comprendido entre febrero

y mayo del 2013 (14 semanas), como parte de un convenio entre la UDCA y la Secretaría de Ambiente de la Alcaldía Mayor de Bogotá, para la valoración y atención clínica de aproximadamente 2.000 caballos de tracción presentes en la ciudad. La ciudad de Bogotá se ubica a 2.600 m.s.n.m, y se caracteriza por poseer una gran diversidad biológica debido a que el 70 % de su territorio es rural, sin embargo, los animales del estudio se encontraban confinados al perímetro urbano.

Estudio serológico

Para cada uno de los equinos reseñados se colecto una muestra de sangre venosa (10 mL) por punción en la vena yugular, con sistema vacutainer, en un tubo sin aditivos (tapa roja) (PANAFTOSA 2017). Las muestras colectadas fueron remitidas al ICA para el diagnóstico de AIE mediante el protocolo oficial establecido; inmunodifusión en agar gel (IDGA), también conocida como prueba de Coggins (Sarmiento *et al*. 2005), para el establecimiento de la información epidemiológica se levantó una ficha control con la fecha de ingreso, sexo, edad, signos clínicos, condición corporal, temperatura corporal, hemograma y resultados de la IDGA. Para la estimación de la edad del equino reportado, se usó la cronometría dentaria y se establecieron dos categorías:

a.- Joven; ejemplar con edad comprendida entre 1 y 3,5 años,

b.- Adulto; ejemplar con edad comprendida entre 3,51 y 25 años.

La temperatura corporal (TC) se determinó con termómetro rectal, usando como límites de referencia para la temperatura normal, los valores reportados por Muñoz *et al*. (2019): entre 37,2 °C y 38,5 °C para los animales adultos y hasta 38,9°C en los potrillos. Para el análisis de los parámetros en los hemogramas, se usaron los valores de referencia para equinos en el área de Bogotá, reportados por Rincón y Torres (2010): recuento de eritrocitos (7,43 – 13,96) x 10^6.μL^{-1}, hematocrito (29,5 - 50,9) % y hemoglobina (9,9 – 15,3) mg.dL^{-1}. La condición corporal (CC) se evaluó en una escala de 1 a 5, de acuerdo a lo reportado por Muñoz *et al*. (2019):

1 - (Mala); cruz, espina y pelvis prominente, grupa con poca musculatura, cuello delgado, costillas fácilmente visibles y la separación entre los músculos semimembranosos y semitendinosos marcada.

2 - (Moderada); cruz levemente prominente, espina bien cubierta, grupa con musculatura, cuello delgado, costillas levemente visibles y la separación entre los músculos semimembranosos y semitendinosos levemente notoria.

3 - (Buena); cruz con musculatura, grupa redonda, costillas cubiertas y cuello musculoso.

4 - (Sobrepeso); cruz poco notoria, grupa levemente partida y grasa sobre la nuca.

5 - (Obeso); cruz redondeada, grupa partida, grasa sobre la nuca muy notoria y pliegues cutáneos de grasa en el cuello.

Análisis estadístico

Los índices de prevalencia fueron calculados usando el software Epi Info™ 3.5.4 (Dean *et al*. 2012). Se calculó la prevalencia general y prevalencia según variables Sexo y Grupo Etario. La prevalencia general se halló dividiendo el número de positivos de Anemia Infecciosa Equina en el total de individuos examinados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La muestra estudiada estuvo compuesta por 351 machos y 118 hembras; 90 animales jóvenes y 379 adultos, esto se muestra en detalle en el Cuadro 1

Los resultados para la prueba de IDGA mostraron que solo 6 animales, clasificados como Adultos, resultaron seropositivos (5 machos y 1 hembra). De acuerdo con los datos obtenidos, la prevalencia general de AIE en la población estudiada fue de 1,2 %, mientras que la prevalencia de AIE en machos fue de 1,4 % y 0,85 %

Cuadro 1. Distribución de los ejemplares incluidos en la evaluación de Anemia Infecciosa Equina en la población de equinos de tracción en Bogotá, Colombia

Grupo Etario	Joven	Adulto	Total
Macho	64 (18,23 %)	287 (81,77 %)	351 (74,84 %)
Hembra	26 (22,03 %)	92 (77,97 %)	118 (25,16 %)
Total	90 (19,19 %)	379 (80,81 %)	469 (100 %)

en las hembras del lote muestreado. Sin embargo, en el estudio realizado por (*Tique et al*. 2015), se encontró que la relación entre machos y hembras seropositivos era igual, lo que corrobora que los dos sexos son igualmente susceptibles a padecerla. Con relación al grupo etario, la prevalencia de AIE fue de 1,6 % en animales adultos.

El cuadro 2 presenta los resultados del hemograma de los ejemplares que resultaron positivos en la IDGA.

Es importante resaltar que ninguno de los reactores positivos presentó resultados hematológicos compatibles con anemia, mientras que 20 ejemplares (5 hembras y 15 machos) que resultaron negativos a la IDGA, mostraron valores de hematocrito, valores de hemoglobina y recuento de eritrocitos por debajo de los rangos considerados como normales para este estudio

Cuadro 2. Valores de hemograma de animales positivos en la evaluación de Anemia Infecciosa Equina en la población de equinos de tracción en Bogotá, Colombia.

Ejemplares positivos	Sexo	Edad (años)	Hematocrito (%)	Eritrocito ($10^6.\mu L^{-1}$)	Hemoglobina ($mg.dL^{-1}$)
Id. 96	Macho	14	32	7,9	11,6
Id. 140	Macho	10	31	8	10,8
Id. 278	Macho	7	44	11,4	12,1
Id. 395	Macho	6	30	7,8	10,9
Id. 415	Macho	7	32	7,6	11,6
Id. 428	Hembra	7	35	8,8	14,1

En relación a la condición corporal, se encontró que el 19 % de los machos, así como de las hembras, presentaron condición corporal menor a 2, sin embargo, solo un ejemplar macho adulto, reportado como positivo para AIE presentó CC menor a 2. El Cuadro 3 presenta en detalle los resultados de la evaluación de Condición Corporal.

Las lecturas de temperatura corporal se presentaron en el rango correspondiente a la hipertermia en 46 (13,1 %) machos y 15 (12,7 %) hembras, y solo una hembra adulta hipertérmica resulto positiva a AIE. El Cuadro 4 presenta los resultados por sexo y grupo etario para la evaluación de temperatura corporal.

Aunque los registros hematológicos, de temperatura corporal y condición corporal de la mayoría de los ejemplares positivos para AIE se presentaron dentro de los límites normales, estos parámetros no deben ser una referencia para esta enfermedad y sus variaciones pueden ser atribuidas a otros factores como parasitismo, desnutrición o exceso de trabajo al cual se pueden someter los animales, esto de acuerdo también a su presentación clínica ya que esta puede diferir dependiendo de la cantidad de virus, capacidad de virulencia y el estado inmunológico del animal (Cook *et al*. 2013).

Cuadro 3. Condición corporal de los ejemplares evaluados para Anemia Infecciosa Equina en la población de equinos de tracción en Bogotá, Colombia.

Sexo	Grupo Etario	Condición Corporal	
		Menor a 2	Mayor a 2
Macho	Adulto	52 (18 %)	235 (82 %)
	Joven	15 (23 %)	49 (77 %)
Hembra	Adulto	19 (21 %)	73 (79 %)
	Joven	3 (11,5 %)	23 (88,5 %)

Cuadro 4. Expresión de temperatura corporal en los ejemplares evaluados para Anemia Infecciosa Equina en la población de equinos de tracción en Bogotá, Colombia.

Sexo	Grupo Etario	Temperatura corporal	
		Hipertérmico	Normotérmico
Macho	Adulto	35 (12,2 %)	252 (87,8 %)
	Joven	11 (17,2 %)	53 (82,8 %)
Hembra	Adulto	10 (10,8 %)	82 (89,1 %)
	Joven	5 (19,2 %)	21 (80,7 %)

La prevalencia general (1,2 %) de AIE en equinos carretilleros en Bogotá D.C, indica la presencia de esta enfermedad y la necesidad de continuar con los seguimientos de la misma, a fin de reafirmar o corregir estrategias de control, minimizando sus efectos en la población de caballos de trabajo y disminuir fuentes de infección (Hernández *et al*. 2014). La prevalencia de AIE en machos (1,4 %) fue mayor que la calculada en las hembras (0,85 %), sin embargo, no se encontró asociación estadística significativa entre la variable sexo y la presencia de la enfermedad.

El número de animales positivos a AIE identificados, puede ser considerado bajo, posiblemente atribuido a que el virus sobrevive por períodos cortos en la boca de los insectos hematófagos y estos insectos usualmente obtienen alimento de un solo huésped (Quinn *et al*. 2011, Mesquita *et al*. 2019). Además, las condiciones eco epidemiológicas tales como altitud, temperatura, humedad, no son las más favorables para el desarrollo del vector, ya que se ha reportado que la transmisión ocurre con más frecuencia en las épocas cálidas, debido al incremento de la actividad de los tabánidos en áreas pantanosas y cerca de áreas boscosas (Quinn *et al*. 2011, Mesquita *et al*. 2019). En la Sabana de Bogotá ha sido comprobada la presencia de *Stomoxys calcitrans*, que puede llegar a ser un vector eficiente del virus, sin embargo, no existe información de aislamientos del virus de estos insectos ni de su eficiencia como vector (Benavides *et al.* 2009, Flores-Flores *et al*. 2015). Entre los factores limitantes para la transmisión viral en la Sabana de Bogotá, se pueden enumerar, la disminución del número de vectores y condiciones climáticas desfavorables (producto del cambio climático), lo cual afecta supervivencia del virus, caracterizado por un lento desarrollo que lo hace susceptible a factores externos como las bajas temperaturas o escasez de vectores.

De acuerdo con reportes previos, para el año 2015 se notificaron 1.633 casos de AIE en Colombia, con un promedio de 136 casos mensuales a nivel nacional (OIE 2020). No obstante, para el año 2012 se contabilizó un 27% de positividad en 11.741 equinos muestreados en 1.781 predios, lo que corresponde a 3.150 equinos (Tique *et al*. 2015). Un estudio más reciente realizado en Florencia (Caquetá, Colombia) mostró 22 ejemplares positivos de un total de 96 (Patiño *et al*. 2017), mientras que en équidos destinados al transporte de pasajeros en el municipio de Santa Clara, Cuba, se reportó una tasa de prevalencia de 0,80 % (Castillo *et al.* 2011).

Es importante considerar que la incubación del virus oscila entre 1 y 3 semanas, y puede prolongarse hasta 3 meses (OIE 2019), lo que puede producir resultados falsos negativos. De igual forma, enfatizar el uso de normas de limpieza y de esterilización para los equipos y otros materiales de uso común, con el fin de evitar que constituyan fuentes de transmisión (Morales *et al.* 2015). Otros aspectos que pueden favorecer la aparición de la enfermedad, es la comercialización de equinos (importación-exportación) portadores así como la migración de vectores o reservorios (Morales *et al*. 2015).

Ante la imposibilidad de establecer la zona de procedencia de cada uno de los ejemplares muestreados, esta variable no pudo ser analizada. No obstante, esta información es de gran utilidad ya que permitiría establecer un nexo epidemiológico entre la presencia de vectores transmisores de la enfermedad con los animales positivos.

La AIE es una enfermedad que no tiene tratamiento ni vacuna, por lo que todas las acciones pertinentes deben encaminarse a la prevención de los factores predisponentes, evitando la entrada y permanencia de animales infectados en la finca. De igual forma, realizar pruebas serológicas para el ingreso de caballos a un predio, así como tamizaje serológico periódico a todos los équidos del predio. Finalmente, la medida de control más importante para el virus de la AIE es la detección y eliminación de los animales seropositivos (Cruz *et al*. 2020).

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos la prevalencia fue muy baja, siendo concordante con resultados en otras regiones por lo tanto la estrategia para controlar la enfermedad es crear una base de datos que permita identificar y ubicar los positivos evitando su comercialización.

No se observó presentación clínica específica para AIE, en los equinos muestreados, posiblemente ocasionado porque la AIE puede presentar variadas manifestaciones clínicas y presenta un tiempo de incubación que varía de 5 a 45 días y en oportunidades se prolonga varios meses.

No se evidenció relación entre la presentación de AIE y la variable Sexo, ya que la enfermedad se presenta en proporciones similares en ambos sexos.

No se observó ningún signo clínico aparente en los animales positivos a AIE, lo que representa un riesgo alto de transmisión para los animales sanos de la ciudad.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Secretaría de Ambiente de la Alcaldía Mayor de Bogotá y la Universidad de Ciencias Ambientales y Ambientales (UDCA), en el marco del convenio realizado, con lo cual permitió la realización del presente trabajo.

LITERATURA CITADA

Alcaldía Mayor de Bogotá. 2013. Decreto 595. Culminación del programa de sustitución de vehículos de tracción animal y prohibición definitiva de su circulación en el Distrito Capital. Alcaldía Mayor de Bogotá. Registro Distrital 5268. 27 dic.

Andrade, DR; Rezende, AS; Santos, SA; Nogueira, MF; Santiago, JM; Lage, J; Melo, MM; Reis, JK; Trigo, P. 2018. Equine infectious anemia affects the athletic performance of equines from the Brazilian Pantanal region (en línea). Pesquisa Agropecuária Brasileira 53(10):1184-1188. Consultado 15 feb. 2020. Disponible en https://doi.org/fg2g

Basaznew, B; Zelalem, S; Mersha, C. 2012. Strongyle Nematode Infections of Donkeys and Mules in and Around Bahirdar, Northwest Ethiopia (en línea). Global Veterinaria 9(4):497-501. Consultado 20 feb. 2020. Disponible en https://doi.org/fg2c

Benavides Ortiz, E; Torijano Forero, P; Ortiz Bedoya, R. 2010. Diseño y uso de trampas con adherente para el control de la mosca del establo *Stomoxys calcitrans* en la Sabana de Bogotá, Colombia. Revista Ciencia Animal (3):55-67.

Burn, CC; Dennison, TL; Whay, HR. 2010. Environmental and demographic risk factors for poor welfare in working horses, donkeys and mules in developing countries (en línea) The Veterinary Journal 186(3):385-392. Consultado 22 feb. 2020. Disponible en https://doi.org/cwxn5j

Castillo Cuenca, JC; Silveira Prado, EA; Cepero Rodríguez, O; Casanova Pérez, R. 2011. Prevalencia de Anemia Infecciosa Equina en el Municipio de Santa Clara, Cuba. (en línea). REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria 12(1):1-6. Consultado 15 abr. 2020. Disponible en https://bit.ly/3eAj3gs

Congreso de la República de Colombia. 2002. Ley 769, Código Nacional de Tránsito Terrestre. Diario Oficial. 13 set.

Cook, RF; Leroux, C; Issel, CJ. 2013. Equine infectious anemia and equine infectious anemia virus in 2013: A review (en línea). Veterinary Microbiology 167(1):181-204. Consultado 11 mar. 2020. Disponible en https://doi.org/fg8m

Crane, MA; Khallaayoune, K; Scantlebury, C; Christley, RM. 2011. A randomized triple blind trial to assess the effect of an anthelmintic programme for working equids in Morocco (en línea). BMC Veterinary Research 7(1):1-8. Consultado 20 feb. 2020. Disponible en https://doi.org/bnrrkn

Cruz, APM; de Aquino, MHC; Helayael, MJSA; Silva, MR; Ribeiro, JB; Hott, MC; de Magalhães Júnior, WCP; de Mendonça, JFM; de Souza, GN. 2020. Seroprevalence for equine infectious anaemia in Equidae seized in the municipality of Petrópolis, State of Rio de Janeiro, Brazil, 2015/2018 (en línea). Ciência Rural 50(4):1-5. Consultado 15 feb. 2020. Disponible en https://doi.org/fg89

Cullinane, AA; Barr, B; Bernard, W; Duncan, JL; Mulcahy, G; Smith, IM; Timoney, JF. 2006. Chapter

1 - Infectious diseases (en línea). In Higgins, AJ; Snyder, JR (eds.). The Equine Manual. 2 ed. Edimburgo. Escocia. W.B. Saunders, 2006, 111 p. Consultado 20 feb. 2020. Disponible en https://doi.org/bnx6gz

Dean, AG; Arner, TG; Sunki, GG; Friedman, R; Lantinga, M; Sangam, S; Zubieta, JC; Sullivan, KM; Brendel, KA; Gao, Z; Fontaine, N; Shu, M; Fuller, G; Smith, DC; Nitschke, DA; Fagan, RF. 2012. Epi Info™ 3.5.4, a database and statistics program for public health professionals (en línea, programa informático). Atlanta, Estados Unidos de América, Centro de Control de Enfermedades. Consultado 10 dic. 2019. Disponible en https://bit.ly/3p5dmvQ

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Italia). 2018. FAOSTAT (en línea). Roma, Italia. Consultado 22 feb. 2020. Disponible en https://bit.ly/2TTrUAa

Flores-Flores, PA; Velázquez-Ordoñez, V; Valladares-Carranza, B; Zamora-Espinosa, JL; Ortega-Santana, C; Gutiérrez-Castillo, A; Alonso-Fresan, U; Barbabosa-Pliego, A. 2015. Anemia infecciosa equina en una yegua pony (Equss caballus). Estudio clinico patologico (en línea). REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria 16(3):1-9. Consultado 15 abr. 2020. Disponible en https://bit.ly/36etDFM

Franco, MMJ; Paes, AC. 2011. Anemia Infecciosa Equina (en línea). Veterinária e Zootecnia 18(2):197-207. Consultado 19 ene. 2020. Disponible en https://doi.org/fg3p

González, FJ. 2011. Anemia Infecciosa Equina (AIE): presentación de un cuadro clínico (en línea). REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria 12(10):1-13. Consultado 15 abr. 2020. Disponible en https://bit.ly/2U6YT4h

Hernández Cruz, Y; Díaz Morales, V; Casañas Sosa, P; Herrera, D; Torres Villar, M; Sánchez Marrero, J; González Chirolez, PL. 2014. Comportamiento de la prevalencia de la Anemia Infecciosa Equina en el municipio Bauta durante el periodo 2000-2011 (en línea). REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria 15(10):1-16. Consultado 15 abr. 2020. Disponible en https://bit.ly/3mXq11R

ICA (Instituto Colombiano Agropecuario). 2019. Sanidad Animal 2016 (en línea). Bogotá, Colombia, Boletin Epidemiológico, Dirección técnica de vigilancia epidemiológica. 197 p. Consultado 10 dic. 2019. Disponible en https://bit.ly/3l1Vm2I

Mesquita, NCPL; Donato, LE. 2019. Positividade da anemia infecciosa equina no Distrito Federal (en línea). Programa de Iniciação Científica - PIC/UniCEUB - Relatórios de Pesquisa 4(1). Consultado 15 ene. 2020. Disponible en https://doi.org/fg8z

Morales, A; Méndez, A; Morales, M. 2015. Anemia Infecciosa Equina: Una Revisión (en línea). Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel 46(1-2):64-76. Consultado 15 abr. 2020. Disponible en https://bit.ly/3kZbnGR

Muñoz, L; Ananias, M; Cruces, J; Ortiz, R; Briones, M. 2019. Condición corporal en caballos de rodeo chileno de élite: estudio preliminar (en línea). Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia 66(1):28-34. Consultado 10 feb. 2020. Disponible en https://doi.org/fg7h

OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). 2019. Anemia Infecciosa Equina (en línea). Manual Terrestre de la OIE. Consultado 10 dic. 2019. Disponible en https://bit.ly/32k69OF

OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). 2020. WAHIS Interface (en línea). Sistema Mundial de Información Zoonótica. Consultado 10 dic. 2019. Disponible en https://bit.ly/2JK9iRm

PANAFTOSA - OPS/OMS. 2017.Manual veterinario de toma y envío de muestras: manual técnico. Rio de Janeiro, Brasil Cooperación Técnica MAPA/OPS/PANAFTOSA para el Fortalecimiento de los Programas de Salud Animal de Brasil. 218 p. (Serie de Manuales Técnicos, 13).

Patiño Q, BE; Baldrich R, NE; Malambo G, MA; Parra M, WD; Ortiz P, LM; Patiño Herrera, A. 2017. Reporte de parasitosis gastrointestinales y equinos positivos a anemia infecciosa equina en la brigada de salud animal en el año 2014 en el municipio de Florencia – Caqueta (en línea). REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria 18(9) 1-10. Consultado 15 abr. 2020. Disponible en https://bit.ly/32k6XTA

Quinn, PJ; Markey, BK; Leonard, FC; Hartigan, P; Fanning, S; Fitzpatrick, ES. 2011. Veterinary

Microbiology and Microbial Disease. 2 ed. Londres, Inglaterra, Wiley-Blackwell. 928 p.

Rincón, AR; Torres, MM. 2010. Determinación de intervalos de referencia de los parámetros hematológicos en caballos de paso fino colombiano en pre y pos ejercicio en la sabana de Bogotá (en línea). Tesis Med. Vet. Bogotá, Colombia, Universidad de La Salle. Consultado 10 dic. 2019. Disponible en https://bit.ly/3etSb1o

Sarmiento, P; Quijano, M. 2005. Prevalencia del virus de la Anemia Infecciosa Equina (AIE) en dos poblaciones de caballos de trabajo de los departamentos del Chocó y La Guajira (en línea). Universitas Scientiarum 10(2):55-60. Consultado 10 feb. 2020. Disponible en https://bit.ly/3k1BGL6

Strauch, A; Castillo, V; Piedrahita, D; Chaparro, J; Villar, D; Sánchez, A; Tobón, J; Ortiz, D; Ramírez, N; Olivera-Ángel, M. 2018. Prevalencia de *Babesia caballi*, *Theileria equi* y tripanosomiasis y análisis de factores de riesgo en equinos de Antioquia, Colombia (en línea). Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica 21(2):491-500. Consultado 15 ene. 2020. Disponible en https://doi.org/fg3t

Tique, V; Polo, F; Benavides, J; Galván, C; Maza, L; Mattar, S. 2015. Seroprevalencia de anemia infecciosa equina en los departamentos de Córdoba y Bolívar, Colombia (en línea). Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias 56(2):96-104. Consultado 15 abr. 2020. Disponible en https://bit.ly/3oZlr5b

Upjohn, MM; Pfeiffer, DU; Yerheyen, KLP; 2014. Helping working Equidae and their owners in developing countries: monitoring and evaluation of evidence-based interventions (en línea). The Veterinary Journal 199(2):210-216. Consultado 22 feb. 2020. Disponible en https://doi.org/gf7h6r

AGRADECIMIENTOS

Los miembros del Comité Editorial de la revista Zootecnia Tropical desean expresar reconocimiento a todos los especialistas que participaron en la revisión de las contribuciones que conforman el Volumen 38 del año 2020

- Elaysa Salas Osorio - Universidad de los Andes, Venezuela
- Hipatia Delgado D. - Universidad Técnica de Manabí, Ecuador
- Fernando Isea - Universidad Técnica de Manabí, Ecuador
- Germán Robaina - Aquaconsultas C.A, Venezuela
- Ana G. Espasandin - Universidad Nacional del Nordeste, Argentina
- Beatriz Elena Patiño Q. - Universidad de la Amazonia, Colombia
- Vaneza Tique S.- Universidad de Córdoba, Colombia
- José G. Fernández - Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Venezuela
- M. Catalina Ospina Pinto - Universidad de La Salle, Colombia
- Rosa C. Razz G. - Universidad del Zulia, Venezuela
- Manuel F. Pirela - Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Venezuela
- José Luis Gil - Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Venezuela
- Sergio L. Mejía K. - AGROSAVIA, Colombia

Agradecemos a los investigadores que enviaron sus contribuciones e invitamos a la comunidad científica especializada a continuar remitiendo sus trabajos a la revista Zootecnia Tropical.